

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GISLENE MARIA BOTÃO KUSSEN

ANÁLISE DO ENSAIO IMUNOLÓGICO IGRA VERSUS PROVA TUBERCULÍNICA  
PARA DETECÇÃO DE INFECÇÃO LATENTE POR *Mycobacterium tuberculosis* EM  
PACIENTES HIV POSITIVOS

CURITIBA

2014

GISLENE MARIA BOTÃO KUSSEN

ANÁLISE DO ENSAIO IMUNOLÓGICO IGRA VERSUS PROVA TUBERCULÍNICA  
PARA DETECÇÃO DE INFECÇÃO LATENTE POR *Mycobacterium tuberculosis* EM  
PACIENTES HIV POSITIVOS

Dissertação apresentada como requisito parcial a  
obtenção do Grau de Mestre em Medicina Interna, pelo  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna, Setor  
de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sonia Mara Raboni

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Libera Maria Dalla Costa

CURITIBA

2014

Kussen, Gislene Maria Botão

Análise do ensaio imunológico IGRA *versus* prova tuberculínica para detecção de infecção latente por *Mycobacterium tuberculosis* em pacientes HIV positivos. / Gislene Maria Botão Kussen. – Curitiba, 2014.

84 f.; il.; 30 cm.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sonia Mara Raboni

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Libera Maria Dalla Costa

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna.  
Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

1. HIV. 2. *Mycobacterium tuberculosis*. 3. Teste tuberculínico. I. Raboni, Sonia Mara.  
II. Título.

NLM WF 200



Ministério da Educação  
Universidade Federal do Paraná  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA INTERNA  
= MESTRADO e DOUTORADO =

## PARECER

Aos trinta e um dias do mês de outubro do ano de dois mil e quatorze, a banca examinadora constituída pelos Professores Doutores: Dra. **Betina Mendez Alcântara**, Dr. **Afrânio Lineu Kritski**, Dra. **Sônia Mara Raboni**, exarou o presente parecer sobre a dissertação elaborada por **Gislene Maria Botão Kussen**, do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna nível Mestrado, da Universidade Federal do Paraná, intitulada: "ANÁLISE DO ENSAIO IMUNOLÓGICO IGRA VERSUS PROVA TUBERCULÍNICA PARA DETECÇÃO DE INFECÇÃO LATENTE POR *Mycobacterium tuberculosis* EM PACIENTES HIV POSITIVOS". A Banca examinadora considerou que **Gislene Maria Botão Kussen**, apresentou trabalho adequado para dissertação e o defendeu com segurança e propriedade nas arguições que lhe foram feitas, de modo a merecer a sua **aprovação**, sendo recomendado à Universidade Federal do Paraná que lhe seja concedido o título de **Mestre em Medicina Interna** e a publicação de artigo em revista técnico-científica com corpo editorial, depois de incorporadas as sugestões apresentadas no decurso das arguições, cumpridas outras exigências previstas em normativas da pós-graduação.

Curitiba, 31 de outubro de 2014.

Professora Dra. **Betina Mendez Alcântara**

Professor / Dr. **Afrânio Lineu Kritski**

Professora Dra. **Sônia Mara Raboni**

Dedico este trabalho à minha família, meu marido, Mario Cesar Kussen, por todo seu apoio e compreensão, e ao meu filho, Bruno Kussen, fonte de toda minha inspiração. Ao nosso futuro e a realização de todos os nossos projetos de vida.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sonia Mara Raboni, por seu total apoio desde o início e durante todo o decorrer deste trabalho.

À minha coorientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Libera Maria Dalla Costa, por acreditar sempre em minha capacidade e por toda ajuda em minha carreira profissional.

À Dr.<sup>a</sup> Andrea Rossoni, por toda ajuda durante as leituras das provas tuberculínicas, por sua disposição em ajudar e também ao incentivo no aprendizado desta técnica.

À todos os meus colegas da Bacteriologia, principalmente à Laura Lucia Cogo, Marisa Viante Rossi e Maria Estela Mosqueira de Lima por toda compreensão e ajuda nesses últimos meses.

A Unidade de Apoio Diagnóstico, Dr.<sup>a</sup> Marisol Dominguez Muro, Dr.<sup>a</sup> Luine Rosele Renaud Vidal e Dr.<sup>a</sup> Mônica Evelise Silveira pela colaboração durante a execução dos testes de prova tuberculínica e nos exames de acompanhamento dos pacientes sintomáticos.

A todos do ambulatório de Infectologia, principalmente Dr.<sup>a</sup> Cléa Elisa Ribeiro, Dr.<sup>a</sup> Maria Cristina Assef, Dr.<sup>a</sup> Mônica Gomes, pelo apoio e ensinamentos durante o recrutamento e acompanhamento dos pacientes no ambulatório.

Aos residentes da Infectologia, Dr. Giovanni Breda, Dr. Bernardo Almeida, Dr. Mauro Tamessawa, Dr.<sup>a</sup> Fernanda Scapinello, Dr.<sup>a</sup> Francine Teixeira, Dr.<sup>a</sup> Caroline Meneses, Dr. Rafael Mialski e demais residentes que estiveram no ambulatório nos anos de 2012 a 2014.

Ao aluno de medicina Lucas Rathunde pela colaboração no preenchimento das fichas, atendimento aos pacientes no ambulatório de Infectologia e realização dos testes no equipamento Pima.

Ao NEBaC, pelo incentivo ao estudo, apoio em congressos na divulgação deste trabalho e pela amizade de todos os membros.

E principalmente aos meus pais, Sebastião Diógenes Botão e Inácia Pereira Botão, por terem me ensinado a grande importância que é o estudo e o conhecimento. Meus maiores incentivadores a essa luta.

“Por sabedoria entendo a arte de tornar possível a vida, mais agradável e feliz possível!”

Arthur Schopenhauer

## RESUMO

Indivíduos infectados com *M. tuberculosis* (MTB) sem doença ativa têm infecção latente por tuberculose (ILTB). Pacientes portadores de HIV, por serem imunodeprimidos, são mais propensos a desenvolver TB ativa. A identificação da ILTB permite a intervenção precoce com o uso de quimioprevenção e, conseqüentemente, contribui para uma menor morbidade e mortalidade neste grupo de pacientes. A prova tuberculínica (PT) mantém-se como o método padrão-ouro para diagnóstico de ILTB, apesar de apresentar limitações técnicas. O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho do teste imunológico QuantiFERON TB Gold In Tube®, que se baseia na avaliação da resposta do gama *interferon* para antígenos específicos de MTB, para diagnóstico de ILTB em pacientes com HIV residentes em um país com alta incidência de tuberculose, comparando estes achados com os resultados da PT. Realizou-se um estudo de Coorte, que incluiu 140 pacientes, que foram acompanhados por um período médio de 12 meses (6 a 21 meses). Um total de 115 (82%) e nove (6,4%) pacientes apresentou ambos os testes negativos e positivos, respectivamente. Entre os resultados discordantes observou-se em 12 (8,6%) pacientes IGRA positivo com PT negativa e em quatro (3%) pacientes resultados de IGRA negativo com PT positiva. O coeficiente de Cohen *Kappa* foi de 0,214, mostrando uma concordância pobre entre as duas técnicas. Comparando os resultados obtidos em ambos os testes, pode-se verificar que não houve evidência estatística de que um ou outro método seja superior ( $p = 0,08$ ). Não foi observada nenhuma correlação entre os resultados de IGRA e PT e os valores de LT CD4+, embora em pacientes com maior imunossupressão (LT CD4+ <300 células/mm<sup>3</sup>) observamos testes IGRA positivos e PT não reatoras. No período de acompanhamento, um paciente que apresentava PT e IGRA negativos evoluiu para morte por septicemia, e outro com resultados discordantes (IGRA+/PT-) apresentou conversão da PT. Avaliando as características de desempenho do IGRA, considerando PT como o teste padrão-ouro, a sensibilidade observada foi em torno de 70%, com especificidade de 90%. Considerando os resultados de ambos os testes como verdadeiro positivo, um aumento de 8% na positividade pode ser observado. O tratamento da ILTB neste grupo de pacientes poderá ter impacto sobre a taxa de tuberculose ativa e sobrevivência de portadores do HIV, porém isso ainda precisa ser avaliado ao longo dos anos.

Palavras-chave: HIV, *Mycobacterium tuberculosis*, teste tuberculínico



## ABSTRACT

Individual infected with *M. tuberculosis* (MTB) without active disease can present latent tuberculosis infection (LTBI). These patients in the context of impaired immune systems, such as HIV+, are more likely to progress to active TB. Identification of LTBI allows early intervention with the use of chemoprophylaxis, consequently contributing to a lower morbidity and mortality in this group of patients. Tuberculin skin test (TST) has remained as gold standard method to diagnosis LTBI, despite it presents technical limitations. The aim of this study was to assess the performance of the new immunological test QuantiFERON TB Gold in tube, which is based on evaluating the IFN-gamma response to specific MTB antigens, to LTBI diagnosis on HIV patients from a country with high-tuberculosis burden, comparing the findings with TST results. It was a cohort study that included 140 patients, who are followed up for 21 months. A total of 115 (82%) and 9 (6.4%) patients had both tests negative and positive, respectively. Disagreement results occurred in 12 (8.6%) patients, whom had IGRA positive with negative TST and 4 (3%) patients that showed positive TST with negative IGRA. The Cohen Kappa coefficient found was 0.214, showing a poor concordance between both techniques. Comparing the results obtained by both tests, there was no statistical evidence that either method is different, because of the discrepancies occurred in a statistically identical manner ( $p = 0,08$ ). None correlation between the results and CD4+ LT values was observed, though in patients with lowers CD4+ LT values ( $<300$  cell/mm<sup>3</sup>) only IGRA tests were positive. In the period of follow up one patient, that presented both negative tests, evolved to death from sepsis, and another with discordant results (IGRA+/TST-) presented TST conversion. Evaluating the operational characteristics of IGRA, considering TST as the gold standard test, the sensitivity observed was around 70% and the specificity 90%. Considering the results of both tests as true positive an incremental of 8% in the positivity could be observed. If the LTBI treatment in this group of patients will have some impact on the rate of active tuberculosis and survival of HIV carriers still need to be evaluated over the years.

**Keywords:** HIV, *Mycobacterium tuberculosis*, tuberculin skin test.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM SEXO.....	51
FIGURA 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM ESTADO CIVIL .....	51
FIGURA 3 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES POR ESCOLARIDADE.....	52
FIGURA 4 – CLASSIFICAÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM CDC.....	53
FIGURA 5 – PROPORÇÃO DE INCREMENTO DA POPULAÇÃO COM ILTB CONSIDERANDO OS RESULTADOS DE AMBOS OS TESTES – PT E IGRA .....	55
FIGURA 6 - CORRELAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS DE PT (A) OU IGRA (B) E CONTAGENS DE LINFÓCITOS T CD4+ .....	57
FIGURA 7 – RESULTADOS DE PT E IGRA X CONTAGENS DE LINFÓCITOS T CD4+ .....	58

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - FATORES DE RISCO PARA O DESENVOLVIMENTO DE TB ATIVA EM PESSOAS INFECTADAS COM <i>M. tuberculosis</i> (LOBUE; MENZIES, 2010) .....	20
TABELA 2 – INDICAÇÕES DO TILTB, BRASIL – 2011 .....	21
TABELA 3 – DEFINIÇÃO DE CASO PARA A VIGILÂNCIA DA AIDS EM ADOLESCENTES E ADULTOS (CDC, 1992 E RACHID; SCHECHTER, 2008) .....	28
TABELA 4 – CONCENTRAÇÕES DOS PADRÕES PARA TÉCNICA QuantiFERON-TB Gold In-Tube® .....	41
TABELA 5 - DILUIÇÃO DO CONJUGADO CONCENTRADO 100X DE ACORDO COM O NÚMERO DE TIRAS UTILIZADO A CADA TESTE .....	42
TABELA 6 – INTERPRETAÇÃO QuantiFERON®-TB Gold InTube .....	43
TABELA 7 – INTERPRETAÇÃO DA TÉCNICA DE ZIEHL-NEESLEN – 2007 .....	45
TABELA 8 – INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DE ACORDO COM A REAÇÃO DA AMOSTRA .....	48
TABELA 9 – COMPARAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS OBTIDOS PELOS TESTES PROVA TUBERCULÍNICA E IGRA.....	54
TABELA 10 – CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS, EPIDEMIOLÓGICAS E CLÍNICAS DOS PACIENTES ESTUDADOS DISTRIBUÍDOS EM DIFERENTES GRUPOS DE ACORDO COM OS RESULTADOS DOS TESTES IGRA E PROVA TUBERCULÍNICA N=140 .....	56
Tabela 11 – CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO DO TESTE IGRA CONSIDERANDO DIFERENTES PREVALÊNCIAS.....	59

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Ac –	Anticorpo
Ag –	Antígeno
aids –	Síndrome da imunodeficiência adquirida – SIDA
BAAR –	Bacilo álcool ácido resistente
BCG –	Bacilo Calmette-Guérin
<i>b</i> DNA –	<i>Branched-chain</i> DNA
CELS –	Células
CDC –	Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos
CFP-10 –	<i>Culture filtrate protein 10</i>
CMV –	Citomegalovírus
C <sub>T</sub> –	Ciclo de <i>Threshold</i>
Detec –	Detectável
DNA –	Ácido desoxirribonucleico
DOTS –	Estratégias de tratamento diretamente observados
DPP –	Imunocromatografia de dupla migração
EIA –	Ensaio imunoenzimático
ELISA –	Enzimaimunoensaio
ESAT-6 –	<i>Early secreted antigenic target 6</i>
HCl –	Ácido clorídrico
HIV –	Vírus da imunodeficiência adquirida
IB –	Imunoblot
IBGE –	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBR –	Imunoblot rápido
IC 95% -	Intervalo de confiança de 95%
IFN- $\gamma$ –	Gama interferon
IgG –	Imunoglobulina classe G
IgM –	Imunoglobulina classe M
IGRA –	Ensaio de liberação do gama interferon
IIQ –	Intervalo interquartil
ILTB –	Infecção latente por tuberculose
IL-2 –	Interleucina 2
IL-12 –	Interleucina 12
Indetec –	Indetectável
INH –	Isoniazida
LACEN –	Laboratório Central do Estado do Paraná
LJ –	Lowenstein Jensen

LT CD4+ –	Linfócitos T CD4+
MAC –	Micobactéria atípica
MDGs –	Metas de desenvolvimento do milênio
<i>M. tuberculosis</i> –	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MNT –	Micobactéria não tuberculosa
MTB –	Complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
NaOH –	Hidróxido de sódio
NASBA –	Amplificação sequencial de ácidos nucleico
NIL –	Tubo controle negativo
OK –	Ogawa-Kudoh
OMS –	Organização Mundial de Saúde
PCT –	Programa de controle da tuberculose
PNB –	Ácido paranitrobenzoico
PPD –	Derivado proteico purificado
PT –	Prova tuberculínica
PVHA –	Pessoa vivendo com HIV/aids
QFT –	QuantiFERON-TB Gold In Tube®
RCF –	Força Centrífuga Relativa
RD1 –	Região de diferença 1
RX –	Raio X
SIDA –	Síndrome da imunodeficiência adquirida – aids
SINAM –	Sistema Nacional de Atendimento Médico
SNC –	Sistema nervoso central
TARV –	Terapia antirretroviral
TB –	Tuberculose
TCH –	Hidrazina do ácido tiofeno-2-carboxílico
TCLE –	Termo de consentimento livre e esclarecido
TDO –	Tratamento diretamente observado
TILTB –	Tratamento de infecção latente por tuberculose
TST –	Teste de suscetibilidade aos tuberculostáticos
UDI –	Usuário de droga injetável
UI/mL –	Unidades internacionais por mL
UT –	Unidades de tuberculina
WB –	<i>Western blot</i>
ZN –	Ziehl Nielsen

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	15
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	17
2.1	EPIDEMIOLOGIA DA TUBERCULOSE NO MUNDO E NO BRASIL	17
2.2	IMUNOLOGIA DA TB	18
2.3	INFECÇÃO LATENTE POR TUBERCULOSE – ILTB	19
2.4	TRATAMENTO DA ILTB (TILTB)	20
2.5	TUBERCULOSE PULMONAR	22
2.6	TUBERCULOSE EXTRAPULMONAR	23
2.7	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DA TB	24
2.8	HIV	25
2.8.1	Apresentações clínicas do HIV	26
2.8.2	Métodos Diagnósticos da Infecção pelo HIV	29
2.9	COINFECÇÃO TB/HIV	31
2.10	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS TB/HIV	32
2.11	PROVA TUBERCULÍNICA – PT	32
2.12	ENSAIO DE LIBERAÇÃO DO GAMA INTERFERON – IGRA	34
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	37
3.1	PRINCIPAL	37
3.2	ESPECÍFICOS	37
<b>4</b>	<b>CASUÍSTICA E MÉTODOS</b>	38
4.1	TIPO DE ESTUDO	38
4.2	COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	38
4.3	CÁLCULO DA AMOSTRA	38
4.4	CASUÍSTICA	39
4.4.1	Critérios de Inclusão	39

4.4.2	Critérios de Exclusão .....	40
4.5	MÉTODOS .....	40
4.5.1	Teste IGRA .....	40
4.5.2	Prova Tuberculínica (PT) .....	43
4.5.3	Amostras de Escarro .....	44
4.5.3.1	Baciloscopia.....	44
4.5.3.2	Cultura em meio sólido .....	45
4.5.3.3	Cultura automatizada.....	46
4.5.3.4	PCR em tempo real .....	46
4.5.4	Cultura Automatizada de Amostras de Sangue .....	48
4.5.5	Identificação do Patógeno e Teste de Sensibilidade .....	48
4.5.6	Análise Estatística .....	49
<b>5</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>50</b>
5.1	CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E EPIDEMIOLÓGICAS.....	50
5.2	PROVA TUBERCULÍNICA E IGRA .....	53
5.3	ACOMPANHAMENTO CLÍNICO E LABORATORIAL.....	59
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>61</b>
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>72</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>71</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>73</b>
	<b>APÊNDICES .....</b>	<b>80</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>85</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) se mantém como um significativo risco a saúde para a humanidade e tem se mostrado como um grande problema de saúde pública no mundo todo. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 2 bilhões de pessoas no mundo estão infectadas. Dados estimados no ano de 2012, 8,6 milhões de pessoas desenvolveram a doença e 1,3 milhões morreram por essa doença. Dentre esses casos de óbito, podem-se ainda calcular 320.000 mortes entre pacientes coinfectedos TB/HIV (WHO, 2014).

Após um contato inicial com o bacilo da tuberculose (TB), o indivíduo, se infectado, pode não desenvolver a doença e não apresentar nenhum sintoma, mas também pode apresentar a infecção latente pelo bacilo da tuberculose (ILTB). Indivíduos imunocompetentes com ILTB apresentam um risco de adoecer por TB por volta de 2%. Em contrapartida, em pessoas com comprometimento do sistema imune, como é o caso de coinfectedos pelo HIV, o risco de reativação da doença é de 23%, podendo chegar a 10% ao ano ou mais. Isso significa que, em um período de dez anos, todos os pacientes portadores do HIV com ILTB irão desenvolver a TB caso não sejam tratados (TUFARIELLO; CHAN; FLYNN, 2003; HERRERA *et al.*, 2011).

A identificação da ILTB nesses indivíduos permite a intervenção precoce por meio do tratamento com isoniazida (INH), contribuindo conseqüentemente para uma menor morbidade e mortalidade desse grupo de pacientes (DOBLER; MARKS, 2012).

A prova tuberculínica (PT) é atualmente o único teste preconizado pelo Ministério da Saúde para diagnóstico de ILTB (BRASIL, 2013d). No entanto, existem várias limitações na realização desta técnica. Indivíduos vacinados com BCG podem ter resultados falso-positivos devido à presença de alguns antígenos que compõem a vacina BCG e em algumas micobactérias não tuberculosas (MNT) (MENZIES, 1999; BROCK *et al.*, 2004; ROSS; GOFF, 2005; MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007; STOUT; MENZIES, 2008; HERRERA *et al.*, 2011). A necessidade de retorno do paciente para a leitura depois da aplicação do teste também leva a um alto



percentual de perda, pois muitos não retornam para leitura (ANDERSEN *et al.*, 2000; BROCK *et al.*, 2004; LINAS *et al.*, 2011). Outros problemas também são apontados por alguns autores como a presença de resultados falso-negativos devido à imunossupressão (pacientes portadores do HIV) e também pela presença de TB ativa, principalmente nas primeiras semanas de tratamento (BROCK *et al.*, 2001; MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007).

No Brasil, por ser uma área de elevada prevalência de infecção pelo MTB e também com significativa taxa de coinfeção TB/HIV, a frequência de PT positiva oscila entre 25% e 55% na população geral, com aumento da probabilidade de resultados falso-negativos devido à coinfeção TB/HIV (AZEVEDO; ALMEIDA; BAHIANSE 20\_\_).

Diante disso, há necessidade da busca de testes mais sensíveis do que a PT para pacientes com imunodepressão. A descrição de ensaios imunológicos para a detecção de gama interferon (IGRA - *interferon-gamma release assay*) em sangue periférico pode ser uma alternativa para a investigação da ILTB em pessoas que vivem com HIV/aids (PVHA). No entanto, ainda não foi estabelecido o valor do IGRA em pacientes com coinfeção pelo HIV em países com alta taxa de tuberculose, onde a exposição das pessoas à *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) é muito frequente, consequentemente com maior risco de ILTB.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 EPIDEMIOLOGIA DA TUBERCULOSE NO MUNDO E NO BRASIL

A tuberculose (TB), causada por membros do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), é uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo todo. É uma doença de transmissão aérea, que afeta principalmente os pulmões (TB pulmonar), mas também pode comprometer outros sítios (TB extrapulmonar).

Dentre a população mundial, estimam-se que 2 bilhões de pessoas estejam com a infecção latente (DYE *et al.*, 1999; WHO, 2014). Dados publicados pela OMS mostram que em 2012 aproximadamente 8,6 milhões de pessoas desenvolveram tuberculose e 1,3 milhões morreram por causa desta doença, incluindo 320.000 mortes de pessoas coinfectados pelo HIV (WHO, 2014).

A TB ocorre em todo o mundo, sendo que os maiores índices estão na África (30%) e Ásia (55%) (WHO, 2014). O Brasil ocupa o 17.º lugar em números absolutos, entre os 22 países de alta carga em tuberculose, sendo uma das cinco doenças prioritárias no País, segundo o Ministério da Saúde (WHO, 2010; BRASIL, 2011).

Desde 1998 o controle desta doença é prioridade para o Ministério da Saúde do Brasil, que vem adotando as estratégias recomendadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (BRASIL, 2013c). É uma doença transmissível, de grande magnitude nos dias atuais e por isso tem sido motivo de estudos entre os profissionais de saúde e uma crescente preocupação para a sociedade. Apresenta-se ainda como um problema em saúde pública, apesar de os índices de tuberculose mostrarem um decréscimo muito baixo em algumas partes do mundo, como em alguns países da Europa, no sudeste da Ásia e no Brasil, não respondendo as metas do Plano Global pós 2015 (DHEDA *et al.*, 2014).

No Paraná, 2.350 casos de TB foram notificados no ano de 2011, apresentando uma incidência de 22,4 por 100 mil habitantes e uma taxa de

mortalidade bruta de 1,1 a cada 100 mil habitantes. No ano de 2010 foram notificados 301 casos de indivíduos coinfectados TB/HIV, o que corresponde a uma incidência de 12,6 por 100 mil habitantes (BRASIL, 2012).

Em 2005, foi proposto pela organização *Stop TB Partnership* um grande plano de ação, incluindo o tratamento da ILTB como importante forma de prevenção de tuberculose para a atualidade, além da vacinação com BCG (KIET *et al.*; RAVIGLIONE, 2006; WHO, 2008).

Em 2008 a OMS propôs uma intervenção baseada nos “Três Is” (tratamento preventivo com INH, a intensificação da detecção de casos de TB, e o controle da ILTB em serviços médicos e prisões) (WHO, 2008). Mas o maior progresso tem sido mostrado nas metas traçadas para o desenvolvimento do milênio (*Millennium Development Goals* – MDGs) publicadas no suplemento *Countdown to 2015*, que pactuam três outros indicadores voltados ao controle da tuberculose: baixas taxas de morte e prevalência reduzindo pela metade em relação as taxas de 1990, proporção de casos detectados e taxas de cura, que constam nos programas DOTS (*directly observed treatment strategy*) (WHO, 2010).

## 2.2 IMUNOLOGIA DA TB

Após a chegada do MTB aos alvéolos, esses bacilos são fagocitados pelos macrófagos alveolares e células dendríticas e migram por meio do sistema linfático em direção ao linfonodo regional. Outros macrófagos também são atraídos dando início a um foco inflamatório, formando o granuloma, que são coordenados por linfócitos T. Há produção de citocinas, como as interleucinas (IL-12 e IL-2), que são consideradas componentes importantes na defesa contra as micobactérias. A IL-12 induz a produção de gama interferon na fase inicial da doença. Com o reconhecimento da micobactéria, os macrófagos secretam IL-12 que induz a produção de gama interferon (TEIXEIRA; ABRAMO; MUNK, 2007).

### 2.3 INFECÇÃO LATENTE POR TUBERCULOSE – ILTB

Pessoas infectadas com o bacilo da tuberculose desenvolvem uma infecção inicial e posteriormente ILTB. Essa fase é caracterizada por uma resposta imune contra o *M. tuberculosis*, mas não há sinais de infecção ativa. (TUFARIELLO; CHAN; FLYNN, 2003). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que 30 milhões de indivíduos tenham a forma latente da tuberculose (DYE *et al.*, 1999; WHO, 2007; POORHASAN; HAGHDOOST; MASHRABI, 2010), que pode perdurar por toda a vida. No entanto, nos casos em que há a coinfeção por HIV pode haver o processo de reativação da doença, com um risco de 23% para esses indivíduos, podendo chegar a 10% ao ano ou mais, sendo que em casos de indivíduos imunocompetentes o risco de adoecer está por volta de 2% (TUFARIELLO; CHAN; FLYNN, 2003; HERRERA *et al.*, 2011). Para esses indivíduos coinfectados o risco de morte por TB aumenta para valores acima de 10% ao ano (LAWN; WOOD; WILKINSON, 2011).

O desenvolvimento da TB pós-primária ocorre em aproximadamente 45% das PVHA, podendo se manifestar como tuberculose de reativação ou reinfeção. Em PVHA, o tratamento da ILTB leva a uma redução na incidência da TB em 70 a 90% (De PINHO *et al.*, 2001; LAWN; WOOD; WILKINSON, 2011). Mesmo com a eficácia da terapia antirretroviral (TARV) e consequente melhora da imunidade, a incidência de TB permanece alta e muitos pacientes apresentam a doença antes da indicação de uso de TARV (SANTORO-LOPES *et al.*, 2002; LAWN; BADRI; WOOD, 2005).

A TB no Brasil é sete vezes mais frequente em pacientes coinfectados pelo HIV do que na população geral. Aproximadamente 12% dos casos de TB estão associados ao HIV, sendo a presença desta infecção considerada como de maior risco para a reativação da TB entre os indivíduos com ILTB (SIMÃO; BARREIRA, 2008). Nesta fase pode-se observar uma resposta imune contra o micro-organismo por meio de testes como a PT (TUFARIELLO; CHAN; FLYNN, 2003).

## 2.4 TRATAMENTO DA ILTB (TILTB)

Atualmente, as recomendações para TILTB variam entre diferentes países. A TABELA 1 mostra os fatores de risco considerados para o desenvolvimento de TB ativa em pessoas infectadas com MTB, modificado no Canadá. Nos Estados Unidos, de acordo com a Sociedade Americana Torácica e o CDC, são utilizados critérios similares com pequenas diferenças nas categorias de risco e não incluem o critério da idade (LOBUE; MENZIES, 2010).

TABELA 1 - FATORES DE RISCO PARA O DESENVOLVIMENTO DE TB ATIVA EM PESSOAS INFECTADAS COM *M. tuberculosis* (LOBUE; MENZIES, 2010)

RISCO	DIAGNÓSTICO
Alto risco (testar e tratar ILTB, recomendado para todas as idades*)	HIV/aids Transplantados (uso de terapia imunossupressora) Silicose Falência renal crônica por hemodiálise Câncer de cabeça e pescoço Infecção por TB recente (<2 anos) RaioX anormal imagem típica de infecção por TB Uso de inibidores de TNF-alfa
Risco moderado (o teste e tratamento para ILTB são recomendados para pacientes <65 anos*)	Tratamento com glicocorticoides <i>Diabetes mellitus</i> (todos os tipos) Pacientes entre 0 e 4 anos quando infectados
Risco ligeiramente aumentado (o teste e tratamento para ILTB são recomendados para pacientes <50 anos*)	Sobrepeso (peso corporal <90% do ideal, para maioria das pessoas é considerado o índice de massa corporal $\leq 20$ ) Fumantes (1 maço de cigarro ao dia) Raio X anormal, com presença de granuloma
Baixo risco (o teste e tratamento para ILTB são recomendados para pacientes <35 anos*)	Pessoas infectadas, sem fator de risco conhecido, raio X normal
Muito baixo risco (o tratamento para ILTB não é recomendado usualmente)	Pessoas nos quais se observou o efeito <i>booster</i> , sem nenhum outro fator de risco e raio X normal

NOTA: \* As recomendações para tratamento de acordo com a idade e o risco são baseadas no risco de desenvolver hepatotoxicidade induzidas por uso de INH, onde: idade >65 anos, incidência >5%; idade 50-65 anos, hepatite 3-5%; idade 35-50 anos, incidência de hepatotoxicidade 1-3% e idade <35 anos, incidência hepatotoxicidade <1%.

ILTB – infecção latente por tuberculose, TNF – fator de necrose tumoral

FONTE: LOBUE, P.; MENZIES, D. Treatment of latent tuberculosis infection: An update. **Respirology**, v. 15, n. 4, p. 603-22, 2010.

No Brasil desde 2010, o Ministério da Saúde tem recomendado o TILTB em algumas situações, entre os quais se incluem os portadores do HIV, conforme TABELA 2 (BRASIL, 2011).

TABELA 2 – INDICAÇÕES DO TILTB, BRASIL – 2011

RISCO	PT≥5mm	PT≥10mm	CONVERSÃO(1)
Maior (indicado tratamento em qualquer idade)	HIV/aids(2)	Silicose	Contatos com TB bacilífera
	Contatos adultos (3) e contatos menores de dez anos não vacinados com BCG ou vacinados há mais de dois anos	Contato com menos de dez anos vacinados com BCG há menos de dois anos	Profissional de saúde
	Uso de inibidores do TNFα	Neoplasia de cabeça e pescoço	Profissional de laboratório de micobactéria
	Alterações radiológicas fibróticas sugestivas de seqüela de TB	Insuficiência renal em diálise	Trabalhador do sistema prisional
	Transplantados em terapia imunossupressora		Trabalhadores de instituições de longa permanência
Moderado (indicado tratamento <65 anos)	Uso de corticosteroides (>15mg prednisona >1mês)(1)	<i>Diabetes mellitus</i>	
Menor (5) (indicado tratamento em <50anos)		Baixo peso (<85% do peso ideal)	
		Tabagistas (≥1maço/dia)	
		Calcificação isolada (sem fibrose) na radiografia	

NOTA: (1) Conversão do PT – segunda PT com incremento de 10mm em relação à primeira PT.

(2) Especificidades na condução do paciente com HIV/aids, ver situações especiais abaixo.

(3) Avaliar controle de contatos.

(4) Populações indígenas.

(5) O PCT deve avaliar a viabilidade operacional para disponibilizar PT a esta população, garantindo, porém, acesso ao tratamento em casos referenciados.

FONTE: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil**. 1 ed. Brasília, DF. Ministério da Saúde, 2011.

O TILTB é considerado uma das grandes estratégias no combate a tuberculose (DOBLER; LUU; MARKS, 2013). O início de uma terapia preventiva

para ILTB é considerado bastante complexo uma vez que devem ser analisados os riscos de toxicidade, os de progressão para doença ativa e ainda o risco de morte por TB (DOBLER; LUU; MARKS, 2013).

O Ministério da Saúde orienta que em PVHA com diagnóstico de ILTB a terapia com isoniazida (INH) está indicada, após a exclusão de doença ativa, nas seguintes situações: contatos próximos (domiciliar ou institucional) de pacientes com TB (independentemente da PT); sequelas de TB na radiografia de tórax na ausência de tratamento específico prévio; pacientes que apresentarem PT  $\geq 5$  mm e aqueles com PT  $< 5$  mm, porém com resultado de PT anterior positiva sem tratamento da ILTB na ocasião (BRASIL, 1999).

Alguns autores demonstraram que no Brasil a TARV isolada reduziu em 59% o risco de desenvolver TB, e com o uso de INH como tratamento para ILTB houve uma redução adicional de 24% (GOLUB *et al.*, 2007). A redução na incidência de TB com a combinação TARV e INH foi observada para pacientes com imunodepressão inicial e avançada (STOUT; MENZIES, 2008; HORSBURGH; RUBIN, 2011).

Vários estudos já citados anteriormente demonstram o benefício que o reconhecimento e tratamento da ILTB podem levar na redução da morbi-mortalidade dos pacientes coinfetados pelo HIV, e esta deve ser feita precocemente, independentemente do grau de imunodepressão. (STOUT; MENZIES, 2008; HORSBURGH; RUBIN, 2011). Pelo aspecto operacional, em busca do diagnóstico da ILTB procuram-se testes mais sensíveis e específicos do que a PT para pacientes com imunodepressão.

## 2.5 TUBERCULOSE PULMONAR

A TB pulmonar pode se apresentar de três formas: primária, pós-primária (ou secundária) ou miliar. Dentre os sintomas clássicos são observados a tosse persistente (três semanas ou mais), podendo ser produtiva ou não (com muco ou sangue), febre vespertina, sudorese noturna e emagrecimento. A TB pulmonar primária é mais comum em crianças, aparecendo vagarosamente, sem sintomas

específicos ou por meio de irritação, febre baixa, sudorese noturna e inapetência. A presença de tosse persistente (acima de três semanas), seca ou produtiva, pode levar à suspeita de TB pulmonar pós-primária, que pode acontecer em qualquer idade. Entre os sintomas, também são observadas febre vespertina, sudorese noturna e anorexia. A forma mais grave da doença, a TB miliar, acontece em 1% dos pacientes soronegativos e pode estar presente em até 10% dos casos em pacientes portadores do HIV, normalmente em fase mais avançada da imunossupressão, com o aparecimento de febre, astenia e emagrecimento associado à tosse (BRASIL, 2011).

## 2.6 TUBERCULOSE EXTRAPULMONAR

Mais comumente presente em pacientes com diagnóstico de aids em fase avançada de imunossupressão, a TB extrapulmonar pode apresentar diversos sinais e sintomas dependendo dos órgãos ou sistemas acometidos. Entre as principais formas encontradas são citadas a TB pleural, forma mais comum que pode também acometer pacientes hígidos; o empiema pleural tuberculoso, que ocorre quando há ruptura de uma cavidade tuberculosa para o espaço pleural; a TB ganglionar periférica, forma mais frequente de TB extrapulmonar em pacientes portadores do HIV e em crianças; a TB meningoencefálica, que pode estar presente em até 3% dos casos de pacientes HIV soronegativos, chegando a 10% dos pacientes HIV positivos; a TB pericárdica, com apresentação clínica subaguda, cujos sintomas são: dor torácica, tosse seca e dispneia e a TB óssea, muito comum em crianças ou em pessoas com 40 e 50 anos, atingindo mais frequentemente a coluna vertebral e as articulações coxofemoral e do joelho (BRASIL, 2011).



## 2.7 DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DA TB

A pesquisa bacteriológica do MTB permite diagnosticar e monitorar o tratamento da doença. Por meio da baciloscopia direta é possível detectar 40 a 60% dos casos de TB pulmonar. A técnica mais usada para diagnóstico rápido da TB pulmonar é o método de Ziehl-Nielsen (ZN) por meio do qual os bacilos álcool-ácido-resistentes (BAAR) são visualizados, possibilitando a busca de casos bacilíferos e o início do tratamento com medicamentos específicos, diminuindo a transmissão da doença (HUF; KRITSKI, 2012).

A cultura do escarro para micobactéria pode aumentar em 30% o diagnóstico microbiológico da doença. Podem ser utilizados meios líquidos por meio de métodos automatizados ou, mais comumente utilizados, os meios sólidos como os meios de Lowenstein-Jensen (LJ) e de Ogawa-Kudoh (OK), de menor custo, menores probabilidades de contaminação, mas de crescimento lento, podendo levar 14 a 30 dias para o desenvolvimento do micro-organismo. Com o crescimento bacteriano é possível realizar a teste de sensibilidade aos tuberculostáticos (TST), pelo método das proporções. Os bacilos são identificados por métodos bioquímicos e fenotípicos ou também por técnicas moleculares (BRASIL, 2011).

Em 2010 a OMS passou a recomendar para países em desenvolvimento o teste molecular totalmente automatizado GeneXpert® MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, CA) capaz de purificar, concentrar, amplificar e identificar sequências alvo do gene *rpoB* para o diagnóstico de resistência à rifampicina em 120 minutos a partir de amostras de escarro. É uma técnica baseada na PCR em tempo real que integra e automatiza todos os processos do teste molecular de forma automática (HUF; KRITSKI, 2012).

## 2.8 HIV

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é um retrovírus com duas cópias de RNA de cadeia simples em seu núcleo, da família *Retroviridae* e pertencente ao gênero *Lentivirinae*, capaz de causar a aids ou síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) (BRASIL, 2013b).

Índices publicados pelo Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/aids (UNAIDS) mostram que, até o final de 2011, aproximadamente 34 milhões de pessoas no mundo estavam infectadas pelo HIV, o que corresponde a 0,8% de adultos com idades entre 15 e 49 anos (UNAIDS, 2012). No Brasil, aproximadamente 718 mil pessoas vivem com HIV/aids (BRASIL, 2013a), com prevalência da infecção pelo HIV na população da mesma faixa etária em 0,6%, sendo 0,4% entre mulheres e 0,8% entre homens (SZWARCOWALD *et al.*, 2011).

Dentre as formas de transmissão do HIV, estão:

- Sexual, sendo o ato heterossexual sem o uso de preservativo considerado pela OMS como o mais frequente;
- Sanguínea, em caso de receptores de sangue ou hemoderivados, usuários de drogas injetáveis (UDI) e transplante de órgãos;
- Transmissão vertical, seja de mãe para filho no período da gestação, parto ou até mesmo por meio do aleitamento;
- Ocupacional, em que profissionais da área da saúde são contaminados com sangue de pacientes portadores do HIV por meio de materiais perfuro-cortantes, com um baixo risco de aproximadamente 0,3% (BRASIL, 2014a).

### 2.8.1 Apresentações clínicas do HIV

A infecção pelo HIV pode ser dividida em quatro fases clínicas: infecção aguda, fase assintomática, ou também conhecida como latência clínica, fase sintomática inicial ou precoce e aids.

Inicialmente há uma fase denominada eclipse, que tem uma duração de aproximadamente 10 dias, em que o RNA viral não é detectado no plasma (BRASIL, 2013b). Seu diagnóstico é pouco realizado devido ao baixo índice de suspeita e na maioria dos casos dá-se de forma retrospectiva.

Em um período médio de 2 a 4 semanas após a infecção pelo HIV ocorre a soroconversão. É a fase aguda da infecção, na qual se observa uma grande produção de partículas virais diariamente e o indivíduo torna-se altamente infectante. Durante o pico da viremia e da atividade imunológica podem aparecer os sintomas da síndrome retroviral aguda, que vão desde um simples quadro viral inespecífico até manifestações que se assemelham à mononucleose infecciosa. Os sintomas podem incluir febre, linfonodomegalia, faringite, exantema, mialgia e cefaleia, duram aproximadamente 14 dias e são normalmente autolimitados. (STREECK; ALTFELD, 2011; BRASIL, 2013c). Nesta fase há uma rápida diminuição dos linfócitos T CD4+, aumento do número absoluto de linfócitos T CD8+ circulantes e inversão da relação CD4+/CD8+ (BRASIL, 2014a).

Com a resolução da fase aguda, ocorre a estabilização da viremia em níveis variáveis, também definidos como “*set points*” e são utilizados como fator prognóstico de evolução da doença. A queda de linfócitos T CD4+ está diretamente relacionada à velocidade da replicação viral e progressão para a aids.

Com a evolução da doença, a presença de infecções bacterianas, sejam estas respiratórias e até mesmo a tuberculose na forma pulmonar cavitária, é mais frequente, inclusive com a contagem de linfócitos T CD4+ acima de 350 células/mm<sup>3</sup> (BRASIL, 2013c).

A fase de latência clínica é considerada assintomática com apenas algumas alterações clínicas (BRASIL, 2014a). É comum a persistência de linfonodomegalia,

podendo também ser encontrada plaquetopenia, anemia e leucopenia leve (BRASIL, 2014c; STREECK; ALTFELD, 2011; BRASIL, 2013c).

Já na fase sintomática inicial, o portador da infecção pelo HIV pode apresentar sinais e sintomas inespecíficos e de intensidade variável, além de alguns processos oportunistas em pele e mucosas. É bastante comum a sudorese noturna, fadiga, emagrecimento, diarreia, sinusopatias, candidíase oral e(ou) vaginal, leucoplasia pilosa (espessamento epitelial benigno, frequente em margens laterais da língua), gengivite, infecções por herpes zoster e trombocitopenia (BRASIL, 2014a; BRASIL, 2014c). Neste momento as contagens de linfócitos T CD4+ vão diminuindo progressivamente para valores entre 200 e 300 células/mm<sup>3</sup> (BRASIL, 2013d).

A aids ou síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) é marcada pelo aparecimento de doenças oportunistas que se desenvolvem em decorrência da alteração imunitária do hospedeiro. Em geral, tais doenças são de origem infecciosa, mas várias neoplasias também podem ser consideradas como oportunistas (BRASIL, 2013d).

As infecções oportunistas podem ser causadas por alguns micro-organismos que normalmente não são considerados patogênicos, pois em pessoas com sistema imune normal são incapazes de desencadear doenças. Entretanto, micro-organismos patogênicos eventualmente causam infecções oportunistas, que são consideradas mais graves e agressivas ao hospedeiro. Várias são as doenças oportunistas associadas à aids, tais como a pneumocistose, neurotoxoplasmose, tuberculose atípica ou disseminada, meningite criptocócica e retinite por citomegalovírus (CMV). Normalmente nesta fase as contagens de linfócitos T CD4+ estão abaixo de 200 células/mm<sup>3</sup> (BRASIL, 2013d).

A contagem de linfócitos T CD4+ é utilizada como um grande marcador da função imunológica de PVHA e um determinante fundamental para início da terapia antirretroviral ou para início de profilaxia para infecções oportunistas (DYBUL *et al.*, 2002; BRASIL, 2013d).

Para categorizar a presença de HIV/aids, o Centro de Controle de Doenças e Prevenção dos Estados Unidos (CDC-EUA) baseia-se na menor quantificação de células CD4+ e na presença de condições relacionadas ao HIV previamente

diagnosticadas, conforme TABELA 3. Esta classificação é muito utilizada para caracterização do início da doença. Indivíduos classificados nas categorias A3, B3, C1, C2 e C3 são considerados como portadores de aids (BRASIL, 2014c; CDC, 1992; RACHID; SCHECHTER, 2008).

TABELA 3 – DEFINIÇÃO DE CASO PARA A VIGILÂNCIA DA AIDS EM ADOLESCENTES E ADULTOS (CDC, 1992 E RACHID; SCHECHTER, 2008)

LINFÓCITOS T CD4+	CATEGORIAS CLÍNICAS		
	A	B	C
	Assintomático ou Infecção Aguda pelo HIV ou Linfadenopatia Generalizada Persistente	Condições Sintomáticas (1) não A ou não C	Condições Indicativas de aids (2)
≥500	A1	B1	C1
200 a 499	A2	B2	C2
<200	A3	B3	C3

NOTA: (1) Categoria B: definidas como condições sintomáticas aquelas que ocorrem em adulto ou adolescente infectado pelo HIV que apresente pelo menos um dos seguintes critérios:

- a) sejam atribuídas à infecção pelo HIV ou indiquem um defeito na imunidade celular;
- b) tenham o curso clínico complicado pela infecção pelo HIV.

Alguns exemplos (entre outros):

- Angiomatose bacilar;
- Candidíase orofaríngea;
- Candidíase vulvovaginal persistente ou resistente;
- Doença inflamatória pélvica;
- Displasia cervical (moderada ou severa)/carcinoma cervical *in situ*;
- Leucoplasia pilosa oral;
- Púrpura trombocitopênica idiopática;
- Sintomas constitucionais, tais como febre >38,5°C) ou diarreia com duração maior que um mês;
- Neuropatia periférica;
- Herpes zoster, envolvendo 2 ou mais episódios ou 1 ou mais dermatômos.

(2) Categoria C: condições indicativas de aids:

- Pneumonia bacteriana recorrente (2 ou mais episódios em 12 meses);
- Candidíase de brônquios, traquéia ou pulmões;
- Candidíase esofageana;
- Carcinoma cervical invasivo, confirmado por biópsia;
- Coccidioidomicose disseminada ou extrapulmonar;
- Criptococose extrapulmonar;
- Criptosporidiose crônica intestinal (duração >1 mês);
- Doença por citomegalovírus (outra além do fígado, baço ou gânglios);
- Encefalopatia relacionada ao HIV;
- Herpes simples: úlceras crônicas (duração >1 mês), ou bronquite, pneumonia ou esofagite;
- Histoplasmose disseminada ou extrapulmonar;
- Isosporíase intestinal crônica (duração >1 mês);

- Sarcoma de Kaposi;
- Linfoma de Burkitt, imunoblástico ou primário do sistema nervoso central (SNC);
- Micobacteriose (*M. avium*, *M. kansasii*) disseminada ou extrapulmonar;
- Tuberculose pulmonar ou extrapulmonar;
- Outras espécies de micobactérias ou espécies não identificadas, disseminadas ou extrapulmonares;
- Pneumonia por *Pneumocystis jirovecii* (*P. carinii*);
- Leucoencefalopatia multifocal progressiva;
- Septicemia recorrente por *Salmonella sp.* (não-tifóide);
- Toxoplasmose cerebral;
- Síndrome consupitiva devida ao HIV (perda de peso involuntária >10%), associada com diarreia crônica (2 ou mais evacuações por dia, por um mês ou mais) ou fraqueza crônica e febre documentada por um mês ou mais.

FONTES: CDC, Centers for Disease Control and Prevention. **Revised Classification System for HIV Infection and Expanded Surveillance Case Definition for AIDS Among Adolescents and Adults**. 1992. Disponível em: < <http://goo.gl/r18d7k> > Acesso em: 13/10/2014; e RACHID, M.; SCHECHTER, M. **Manual de HIV/AIDS**. Rio de Janeiro: Ed Revinter, 9ª ed. Revisada e Ampliada, 2008.

## 2.8.2 Métodos Diagnósticos da Infecção pelo HIV

O diagnóstico da infecção por HIV deve seguir um fluxograma previamente determinado por portaria ministerial publicada desde o ano de 2003, no qual se recomenda a realização de testes sequenciais baseados em reações imunológicas e(ou) moleculares, dependendo da faixa etária do indivíduo que está sendo investigado.

Em pacientes adultos, após a exposição ao HIV é possível o diagnóstico sorológico da infecção por meio da detecção do vírus e dos anticorpos anti-HIV. São utilizados testes de triagem, com alta sensibilidade, e testes complementares, altamente específicos. Para melhorar a qualidade do diagnóstico recente pelo HIV, o Ministério da Saúde adotou como referência a classificação de Fiebig (FIEBIG *et al.*, 2003), em que se utilizam ensaios de triagem imunoenzimáticos (EIA) de terceira geração, que detectam imunoglobulinas das classes M e G (IgM e IgG), e os testes de quarta geração, para detecção combinada do antígeno p24 e do anticorpo anti-HIV. Sempre que o paciente apresentar um teste imunológico de triagem positivo, recomenda-se a realização de testes sequenciais complementares para confirmação diagnóstica. Como testes complementares convencionais são indicados os testes

Western Blot (WB), Imunoblot (IB) ou Imunoblot Rápido (IBR). Se a amostra apresentar resultado reagente nos testes de triagem e complementar, ela é considerada positiva para HIV 1/2, porém seu laudo somente deverá ser emitido após repetição da metodologia de triagem com uma nova coleta de sangue para descartar a possibilidade de troca de amostra (BRASIL, 2013b).

A realização de testes combinados sequenciais de EIA e WB tem uma acurácia superior a 95% para detecção da infecção pelo HIV, apresentando uma baixa taxa de testes falso-positivos (em torno de 0,0006%) (RICH *et al.*, 1999). No entanto, o período de soroconversão completa pode levar em torno de 3 a 4 semanas, ou seja, um paciente pode apresentar um teste de triagem reagente com o teste complementar ainda negativo ou indeterminado. Nessas situações os testes moleculares são recomendados, uma vez que durante a soroconversão há altos títulos de viremia, que são detectados nos exames de biologia molecular (BRASIL, 2013b).

Por esse motivo, recentemente o Ministério da Saúde publicou novas orientações para o fluxograma de diagnóstico laboratorial, que recomenda aos laboratórios de médio e grande porte a confirmação da infecção por meio de testes moleculares de carga viral, já disponibilizado na rede pública de laboratório. (BRASIL, 2013b).

Deve-se ressaltar, no entanto, que para indivíduos que mantêm a viremia em valores considerados indetectáveis em testes moleculares, os controladores de elite, o diagnóstico sempre deve ser realizado por meio dos testes confirmatórios WB, IB e IBR (BRASIL, 2013b).

Existem também fluxogramas que orientam a realização de testes imunológicos rápidos que podem ter seus resultados em até 30 minutos. São testes desenvolvidos para ambientes laboratoriais e não laboratoriais, ampliando assim o acesso ao diagnóstico do HIV. São dispositivos (ou tiras) de imunocromatografia (ou fluxo lateral), imunocromatografia de dupla migração (DPP) e dispositivos de imunoconcentração e fase sólida (BRASIL, 2013b).

Ainda há a possibilidade de se realizar a cultura de células mononucleares de sangue periférico para isolamento do HIV, utilizada para caracterizar o HIV como

agente causador da aids e as culturas quantitativas de células e quantitativa de plasma, técnicas utilizadas para medir a carga viral intracelular (BRASIL, 2011).

Além disso, há a possibilidade da análise quantitativa direta da carga viral por meio de técnicas que amplificam o genoma do HIV como PCR quantitativo, amplificação de DNA de cadeia ramificada (*branched-chain* DNA ou *bDNA*) e amplificação sequencial de ácidos nucleicos ou NASBA (BRASIL, 2011), os quais podem ser utilizados tanto para o diagnóstico da infecção pelo HIV quanto para monitoramento de pacientes em terapia antirretroviral.

## 2.9 COINFECÇÃO TB/HIV

Alguns autores mostram o HIV como sendo um importante fator de risco para desenvolvimento da tuberculose entre pacientes adultos (COHEN *et al.*, 2006; PERSON; STERLING, 2012; DOBLER; LUU; MARKS, 2013). Aproximadamente 1,1 milhões (13%) de pessoas dentre os 8,6 milhões de pessoas infectadas pelo bacilo da tuberculose são portadores do HIV (WHO, 2013). Dados preliminares do Ministério da Saúde/Sistema Nacional de Atendimento Médico (SINAM) e Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) mostram a proporção média de 9,7% de coinfeção TB-HIV no Brasil sendo o estado do Rio Grande do Sul com o maior índice 19% (BRASIL, 2013d).

Dentre as propostas apresentadas pelo grupo *Stop TB Partnership*, pode-se destacar a detecção de casos de infecção latente pelo *M. tuberculosis* (ILTB) entre populações de risco, como contatos de TB pulmonar e tratamento da ILTB (TILTB) como medida de prevenção do adoecimento, para assim reduzir a cadeia de transmissão e mortalidade (RAVIGLIONE, 2006; WHO, 2008; POORAN *et al.*, 2010; PAI *et al.*, 2014). O risco de adoecimento por TB em pacientes vivendo com HIV/aids (PVHA) é de 10%, sendo que a única forma de prevenir e reduzir a mortalidade dá-se por meio do TILTB (De PINHO *et al.*, 2001; GOLUB *et al.*, 2007; PAI; MENZIES, 2007).



## 2.10 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS TB/HIV

As manifestações clínicas da TB em pessoas portadoras do HIV estão diretamente relacionadas ao aumento da imunossupressão. A TB pulmonar pode ser identificada inicialmente em imagens radiológicas por cavitações em área apical pulmonar e, posteriormente, com a diminuição da imunidade, pode-se observar infiltrado pulmonar sem a cavitação habitual e também sem a presença de sintomas como febre, tosse, perda de peso, sudorese noturna e mal-estar geral (MAARTENS, 2014).

Com o avanço da imunossupressão há um aumento do risco de desenvolvimento da TB extrapulmonar e também disseminada, podendo alcançar linfonodos, pleura e outros sítios. Para o diagnóstico, são enviadas amostras de líquido, gânglio linfático ou pleural, ou ainda líquido pericárdico para cultura. Para pacientes com contagens de linfócitos T CD4+ abaixo de 100 células/mm<sup>3</sup> torna-se comum a presença de TB disseminada, e amostras de sangue e urina são enviadas para cultura de micobactérias atípicas (MAC), que são frequentemente encontradas, dificultando ainda mais o diagnóstico e aumentando o risco de mortalidade (MAARTENS, 2014).

Na infecção subclínica frequentemente não há sintomas ou achados radiológicos característicos, podendo ser identificada apenas pela cultura positiva de materiais biológicos (MTEI *et al.*, 2005).

## 2.11 PROVA TUBERCULÍNICA – PT

O diagnóstico da ILTB baseia-se na realização da prova tuberculínica (PT), descrita por Koch em 1890 e desenvolvida por Mantoux em 1907, que consiste na inoculação intradérmica de um derivado proteico do *M. bovis* (PPD – derivado proteico purificado) para medir a resposta imune celular a estes antígenos (JASMER; NAHID; HOPEWELL, 2002; HERRERA *et al.*, 2011). A leitura do teste é

feita depois de 48 a 72 horas da aplicação e o tamanho da reação é determinado pela medida da enduração, em milímetros, no local da aplicação, sem considerar o possível eritema na pele (JASMER; NAHID; HOPEWELL, 2002).

A prova tuberculínica é o exame recomendado para a detecção da ILTB (STOUT; MENZIES, 2008). No entanto, várias limitações são observadas na realização desta técnica:

- Em indivíduos vacinados podem ocorrer resultados falso-positivos, o que mostra uma baixa especificidade do método. Alguns antígenos presentes nas tuberculinas (PPD) também estão em micobactérias não tuberculosas (MNT) e na vacina BCG (MENZIES, 1999; BROCK *et al.*, 2004; MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007; STOUT; MENZIES, 2008; HERRERA *et al.*, 2011). Apesar de não ser realmente possível provar que uma reação é positiva devido a uma infecção verdadeira ou causada especificamente pela vacina da BCG, estudo realizado na década de 1990 mostrou que apenas 8% das pessoas que receberam a vacina da BCG ao nascimento tiveram um teste reator para a prova tuberculínica 15 anos mais tarde (MENZIES; VISSANDJEE, 1992; JASMER; NAHID; HOPEWELL, 2002);
- Há um alto percentual de perda de leituras que deve ser realizada depois da aplicação do teste, pois muitos não retornam (ANDERSEN *et al.*, 2000; BROCK *et al.*, 2004; LINAS *et al.*, 2011);
- A tuberculina deve ser corretamente aplicada pela via intradérmica, necessitando assim de um profissional qualificado para tal;
- A leitura da enduração é considerada difícil e subjetiva, podendo variar de profissional para profissional. Com frequência, observam-se resultados falso-negativos, principalmente em pacientes imunodeprimidos, portadores do HIV e pacientes com TB ativa nas primeiras semanas de tratamento (BROCK *et al.*, 2001; MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007). Além disso, várias outras condições são citadas como interferentes da PT, como desnutrição, imunodeficiência T congênita ou adquirida, neoplasias malignas, TB disseminada, viroses sistêmicas e vacinas com vírus vivos (ANDERSEN *et al.*, 2000; MAZUREK *et al.*, 2001);
- É possível ainda observar, em alguns casos, o efeito *booster*, em que há ativação de células de memória após uma primeira aplicação da PT, resultando assim em uma subsequente PT positiva e não uma conversão da PT (BROCK *et al.*,

2001; JASMER; NAHID; HOPEWELL, 2002; MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007; STOUT; MENZIES, 2008). Nesses casos, as interpretações de PT seriadas indicam situações de exposição contínua, implicando uma maior complexidade na interpretação (MENZIES, 1999);

– A PT não é capaz de distinguir entre infecção remota e recente, ILTB e TB doença (ANDERSEN *et al.*, 2000; PAI; MENZIES, 2007) e, principalmente, é incapaz de distinguir aqueles que têm elevado risco de adoecimento (BARNES, 2004).

A detecção da ILTB em PVHA tem sido um dos maiores desafios para a redução da morbi-mortalidade destes pacientes. O único teste atualmente disponível para a investigação da ILTB é a prova tuberculínica (PT), porém nas áreas de elevada prevalência de infecção pela TB, como no Brasil, onde a taxa de PT positiva oscila entre 25% e 55% na população geral, e nos locais de significativa taxa de coinfeção TB/HIV, onde aumenta a probabilidade de resultado falso-negativo, a interpretação desta metodologia para o diagnóstico e a consequente recomendação do TILTB ainda constituem um desafio. Daí porque, há necessidade da busca de testes mais sensíveis do que a PT para pacientes com imunodepressão.

## 2.12 ENSAIO DE LIBERAÇÃO DO GAMA INTERFERON – IGRA

A descrição de ensaios imunológicos para a detecção de gama interferon (IFN- $\gamma$ ) (IGRA – *interferon-gamma release assays*) em sangue periférico pode ser uma alternativa para a investigação da ILTB em PVHA (RUUTEL *et al.*, 2014). No entanto, ainda não foi estabelecido o valor do IGRA em pacientes com coinfeção pelo HIV (MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007).

Dois novos testes estão sendo estudados para o diagnóstico da ILTB. O QuantiFERON-TB Gold In-Tube® (QFT) (Cellestis, Carnegie, Austrália) e o T-SPOT TB® (Oxford Immunotec, Oxford, United Kingdom). Ambos utilizam antígenos purificados do *M. tuberculosis* que estimulam os linfócitos do sangue periférico para a produção de IFN- $\gamma$  (HORSBURGH; RUBIN, 2011). Estes se baseiam no conceito

de que células T de indivíduos infectados pelo *M. tuberculosis* liberam ex-vivo IFN- $\gamma$  quando estimuladas pelos antígenos bacterianos (ANDERSEN *et al.*, 2000; PAI, RILEY; COLFORD, 2004; STOUT; MENZIES, 2008).

Por meio de um ensaio imunoenzimático (EIA), o QFT é capaz de detectar “in vitro” IFN- $\gamma$  que está diretamente relacionado à infecção por *M. tuberculosis*. É um ensaio que determina a reação imunológica celular dos peptídeos que simulam as proteínas que aparecem no organismo decorrente do contato com o *M. tuberculosis*. Essas proteínas são o ESAT-6 (*early secreted antigenic target 6*), CFP-10 (*culture filtrate protein 10*) e uma porção do antígeno da tuberculose TB7.7 (p4), que não estão presentes em nenhuma das cepas utilizadas na vacina da BCG e que também não estão presentes na maioria das micobactérias do grupo não *M. tuberculosis* (MNT), com exceção do *M. kansasii*, *M. szulgai* e *M. marinum*. Os genes codificadores destes antígenos são encontrados na RD1 (*region of difference 1*) do genoma do *M. tuberculosis*, mas não no genoma do *M. bovis* e de certas MNT como o *M. avium* (ANDERSEN *et al.*, 2000; BROCK *et al.*, 2004; PAI; RILEY; COLFORD, 2004; MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007; PAI *et al.*, 2014).

O T-Spot TB® utiliza a técnica *Elispot* que quantifica as células mononucleares que produzem IFN- $\gamma$  (EWER *et al.*, 2003). Baseados nesses conceitos, o IGRA apresenta maior especificidade, pois sofre menor impacto da vacinação prévia com o BCG e da exposição às MNT (ANDERSEN *et al.*, 2000; PAI; RILEY; COLFORD, 2004).

Existem ainda outras vantagens do IGRA sobre a PT, como a necessidade de apenas uma única visita do paciente para a realização do teste, menor risco de efeitos adversos por serem realizados *ex-vivo* e são potencialmente desprovidos do efeito *booster* (MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007; PAI; MENZIES, 2007; HORSBURGH; RUBIN, 2011). Ao contrário da PT, os testes IGRA mostram resultados positivos em pacientes recém-infectados pelo bacilo da tuberculose; grupo este com maior risco de progressão a doença (DIEL *et al.*, 2011; HORSBURGH; RUBIN, 2011).

No entanto, comparando com a PT, algumas desvantagens dos testes IGRA são citadas, como o elevado custo, a necessidade de equipamentos de laboratório, de técnicos treinados, e de cuidados para obter e conservar o sangue para garantir a

viabilidade dos linfócitos (HORSBURGH; RUBIN, 2011). Além disso, ainda há uma escassez de estudos prospectivos de avaliação do risco de TB ativa em indivíduos com resultados positivos do IGRA (MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007). Esses testes IGRA devem ser utilizados juntamente com avaliações de contato para que a decisão do tratamento preventivo seja considerada (RUUTEL *et al.*, 2014).

A PT é um teste que tem sido avaliada extensamente por mais de um século em diversos estudos experimentais e em estudos de coorte que permitem estimar o risco da doença e o benefício do tratamento da ILTB (BROCK *et al.*, 2001; MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007). Mas nenhum dos testes utilizados permite avaliar a possibilidade de saber quais indivíduos infectados têm maiores riscos de adoecimento e, portanto, teriam maior benefício do TLTB (STOUT; MENZIES, 2008). No caso da presença de maiores valores, em milímetros de reação à tuberculina no teste PT, não implica em maior risco de adoecimento (ATS e CDC, 2000), e também não há ainda evidências sólidas sobre a associação entre os resultados do IGRA e o risco de adoecimento (DIEL, *et al.*, 2011, STOUT; MENZIES, 2008).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 PRINCIPAL

Analisar o desempenho do teste IGRA em comparação com a PT para o diagnóstico da infecção latente pelo *Mycobacterium tuberculosis* em pacientes HIV positivos atendidos no HC-UFPR.

#### 3.2 ESPECÍFICOS

- Analisar a sensibilidade e especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo do IGRA em pacientes com HIV/aids atendidos no ambulatório HC- UFPR.
- Analisar perfil clínico e laboratorial dos pacientes HIV positivos relacionando com os resultados da PT e do IGRA acompanhados por um período de no mínimo doze meses.
- Analisar a frequência de tuberculose ativa, investigada pelos métodos de diagnóstico tradicionais, como bacterioscopia e cultura, assim como métodos avançados, como biologia molecular e cultura automatizada nos pacientes HIV positivos envolvidos no estudo, relacionando estes achados com os resultados da PT e do IGRA.

## 4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

### 4.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo longitudinal tipo Coorte.

### 4.2 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná sob o número do CAAE: 02239612.4.0000.0096 (ANEXO 1). Todos os participantes da pesquisa foram devidamente informados de todos os riscos e benefícios do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE 1). Foi mantido o caráter anônimo dos pacientes e suas identidades protegidas de terceiros não autorizados. As fichas clínicas submetidas não foram identificadas pelo nome, mas por um código. Igualmente, os formulários de TCLE assinados pelos pacientes mantidos pelo pesquisador em confidência estrita, juntos em um único arquivo. Todos os pacientes receberam uma cópia do TCLE.

### 4.3 CÁLCULO DA AMOSTRA

O tamanho da amostra foi calculado com base na formula:

$$n = (Z\alpha^2 \times P \times Q) \div d^2$$

Foi considerado erro  $\alpha = 5\%$  com uma precisão de 10% e o percentual de discordância entre os dois testes (IGRA x PT) de 30% (BROCK, 2004); obteve-se um n de 80 pacientes. Considerando 20% de perdas, calculou-se um tamanho

amostral mínimo de 100 pacientes. Com o objetivo de melhorar a visualização dos resultados e aperfeiçoar a utilização do kit adquirido para este fim, foi possível realizar a coleta de amostras de 154 pacientes.

#### 4.4 CASUÍSTICA

Pacientes portadores do HIV que estiveram em consulta de rotina no ambulatório de infectologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná no período de agosto de 2012 a agosto de 2013 foram avaliados pela equipe do serviço do hospital e, posteriormente, convidados para participar do estudo. Após assinatura do TCLE, a esses pacientes foi aplicado um questionário de pesquisa (APÊNDICE 2), por meio de entrevista e revisão de prontuários médicos, constando a data do diagnóstico do HIV, início do tratamento para HIV, carga viral atual, história de tratamento anterior para TB ou TILTB, medicamentos atuais, presença de sintomas clínicos, contato com tuberculose, pega vacinal (foi considerada vacinação BCG realizada na presença de marca vacinal ou relato pelo próprio paciente no questionário de pesquisa).

##### 4.4.1 Critérios de Inclusão

Foram incluídos no estudo pacientes com idade acima de 18 anos, que assinaram o Termo de Comprometimento Livre e Esclarecido (TCLE), portadores do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV/aids) que foram atendidos no ambulatório do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.



#### 4.4.2 Critérios de Exclusão

Foram excluídos do estudo os pacientes com diagnóstico prévio de TB ou em tratamento para ILTB ou doença ativa TB e aqueles que não retornaram para leitura da prova tuberculínica.

### 4.5 MÉTODOS

Foram realizados simultaneamente os testes de detecção de gama interferon (IGRA) e a prova tuberculínica (PT). As técnicas laboratoriais destes exames foram realizadas exclusivamente por um profissional técnico capacitado para a sua execução com concordância interna de 96%. Para o ensaio imunoenzimático IGRA foi realizado treinamento pelo consultor técnico disponibilizado pelo fornecedor do reagente. A capacitação para realização do teste cutâneo PT foi feita por profissionais do Ministério da Saúde durante a realização de capacitação para formação de multiplicadores de profissionais da saúde pública.

#### 4.5.1 Teste IGRA

Para realização do IGRA foi utilizado o teste QuantiFERON-TB Gold In-Tube® (Cellestis, Carnegie, Austrália). Foram coletados em três tubos, 1mL de sangue/tubo: controle negativo (NIL), tubo teste (Ag) e o tubo mitógeno.

Após a coleta, os tubos foram agitados de 8 a 10 vezes durante 5 segundos para misturar o sangue com os componentes aderidos na parede dos tubos. Após identificação correta, as amostras foram incubadas de 16 a 24 horas em estufa 37°C. Posteriormente foram centrifugadas por 15 minutos a 3.000 g, em seguida foi

retirado o plasma, transferido para criotubos e estes congelados em freezer -70°C para serem processados pelo método de ensaio imunoenzimático (EIA).

Antes da realização do EIA, todas as amostras de plasma e reativos, exceto o conjugado concentrado 100X, foram mantidas 60 minutos a temperatura ambiente ( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ).

O padrão liofilizado foi dissolvido em volume de água destilada de acordo com a indicação da etiqueta do tubo, misturado suavemente, para evitar formação de espuma e processado em uma série de diluições para obtenção das concentrações descrita na TABELA 4.

TABELA 4 – CONCENTRAÇÕES DOS PADRÕES PARA TÉCNICA QuantiFERON-TB Gold In-Tube®

PADRÃO	CONCENTRAÇÃO
P1	4 UI/mL
P2	1 UI/mL
P3	0,25 UI/mL
P4	0 UI/mL

FONTE: dados fornecidos pelo fabricante

Após identificação dos tubos P1, P2, P3 e P4 foram adicionados 150µL do diluente em cada tubo. Para o tubo P1 foi pipetado um volume de 150 µL do padrão diluído anteriormente. Após correta homogeneização, foram retirados 50µL do tubo P1 e passado para o tubo P2, misturado e transferido 50µL do P2 para o P3.

O conjugado 100X concentrado foi diluído de acordo com o número de amostras testadas. Na TABELA 5 são demonstrados os volumes de diluente e conjugado concentrado de acordo com o número de tiras utilizado a cada corrida teste.

TABELA 5 - DILUIÇÃO DO CONJUGADO CONCENTRADO 100X DE ACORDO COM O NÚMERO DE TIRAS UTILIZADO A CADA TESTE

NÚMERO DE TIRAS	VOLUME CONCENTRADO 100X CONJUGADO	VOLUME DILUENTE VERDE
2	10 µL	1,0 mL
3	15 µL	1,5 mL
4	20 µL	2,0 mL
5	25 µL	2,5 mL
6	30 µL	3,0 mL
7	35 µL	3,5 mL
8	40 µL	4,0 mL
9	45 µL	4,5 mL
10	50 µL	5,0 mL
11	55 µL	5,5 mL
12	60 µL	6,0 mL

FONTE: dados fornecidos pelo fabricante

Na primeira coluna vertical da placa fornecida no kit foram pipetados 50µL dos padrões em duplicata. Após homogeneização das amostras, foram pipetados 50µL de plasma, obedecendo a ordem: NIL, Ag e mitógeno no sentidos vertical. Em seguida foram adicionados 50µL do conjugado recém-preparado, de acordo com a TABELA 5 e, foi feita a incubação no escuro em temperatura ambiente ( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) por 120 minutos.

Ao final do tempo de incubação realizou-se a lavagem da placa com tampão de lavagem diluído conforme especificações técnicas em lavadora automática, utilizando um volume 400 µL da solução tampão por seis vezes.

Retirado o excesso de solução de lavagem, foi pipetado 100µL de substrato. A placa foi coberta e incubada novamente por 30 minutos em temperatura ambiente ( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) em local escuro. Passados os 30 minutos foram adicionados 50 µL da solução de parada e homogeneizado. Em seguida foram realizadas leituras em leitora de ensaios imunoenzimáticos em filtro 450nm com filtro de referência 620nm. Para interpretação do teste foi utilizada a TABELA 6 e o software de análise fornecido juntamente com o kit (versão 2.17). Este também é capaz de assegurar o controle de qualidade de cada ensaio, baseado na curva padrão e nos resultados das absorbâncias de cada teste.

TABELA 6 – INTERPRETAÇÃO QuantiFERON®-TB Gold InTube

BRANCO (UI/mL)	ANTÍGENO TB MENOS BRANCO (UI/mL)	MITÓGENO MENOS BRANCO (UI/mL)	RESULTADO QuantiFERON®-TB Gold IT	INTERPRETAÇÃO
≤ 8,0	<0,35	≥0,5	NEGATIVO	IMPROVÁVEL infecção por <i>M. tuberculosis</i>
	≥0,35 e <25% do valor do branco	≥0,5		
	≥0,35 e ≥25% do valor do branco	Qualquer	POSITIVO	PROVÁVEL infecção por <i>M. tuberculosis</i>
	<0,35	<0,5	INDETERMINADO	INDETERMINADO
	≥0,35 e <25% do valor do branco	<0,5		Resultados relativos à resposta de antígenos
>8,0	Qualquer	Qualquer		

FONTE: dados fornecidos pelo fabricante

#### 4.5.2 Prova Tuberculínica (PT)

Para a prova tuberculínica foi administrado o volume de 0,1mL (2UT - unidades de tuberculina) por via intradérmica, do derivado proteico purificado (PPD-Rt 23) no terço médio anterior do antebraço esquerdo utilizando uma seringa de insulina e respeitando um ângulo de 15° entre a seringa e a pele do indivíduo. Após um período de 48 a 72 horas foi realizada a leitura do teste em milímetros, sempre pelo mesmo profissional previamente treinado. Leituras com valores entre 0 e 4 mm foram consideradas não reatoras e ≥5mm foram consideradas PT reatoras. Para os pacientes com PT reatora foram realizados exames de escarro e RX de tórax para descartar TB ativa. O RX de tórax foi avaliado sempre pelo mesmo radiologista, com grau de concordância interna de 100%.

### 4.5.3 Amostras de Escarro

Nos pacientes com sintomas respiratórios foram coletadas duas amostras distintas de escarro, obtidas por expectoração espontânea. Foram considerados pacientes sintomáticos os indivíduos com os seguintes sinais e sintomas: tosse diária por duas semanas ou mais, e(ou) febre persistente, e(ou) sudorese noturna, e(ou) quadro pulmonar sem melhora com tratamento habitual (pneumonia ou sibilância), e(ou) inapetência, e(ou) adinamia e(ou) perda de peso.

Essas amostras foram avaliadas por: pesquisa direta do bacilo da tuberculose (bacilo álcool-ácido resistente - BAAR), cultura manual em meio sólido (Lowenstein Jensen - LJ), cultura automatizada em meio líquido utilizando equipamento automatizado Bactec MGIT 960 TB® (Becton Dickinson, Sparks, MD, EUA) e PCR em tempo real (Nanogen®). Além disso, foram coletados 3 a 5 mL de sangue e inoculados em frasco específico, BacT/ALERT® MB (Middlebrook 7H9 suplementado com glicerol e SPS), incubado no equipamento automatizado BacTALERT®3D (bioMérieux Inc., Durham, NC, EUA).

#### 4.5.3.1 Baciloscopia

Após confecção e fixação a quente em lâminas novas com as amostras de escarro dos pacientes foi utilizada a coloração de Ziehl-Neelsen para pesquisa de BAAR. Essa coloração foi desenvolvida em 1882 por Franz Ziehl e Friedrich Neelsen. É uma técnica de coloração a quente em que a fucsina fenicada para Ziehl foi aquecida até emissão de vapores por três vezes evitando a fervura do corante, por até cinco minutos. Após lavar em água corrente foi utilizado o álcool ácido a 3% descorando totalmente o esfregaço em lâmina. Finalmente, após lavar em água corrente, cobriu-se toda a lâmina com o azul de metileno por um minuto. Passado esse tempo, a lâmina foi novamente lavada em água corrente e colocada para secar antes da avaliação em microscópio com objetiva de imersão. Para interpretação

foram analisados ao menos 100 campos e liberado laudo de acordo com a TABELA 7.

TABELA 7 – INTERPRETAÇÃO DA TÉCNICA DE ZIEHL-NEESLEN – 2007

NÚMERO DE BACIOS VISUALIZADOS	INTERPRETAÇÃO
Ausência de BAAR em 100 campos examinados	Negativo
1 a 9 bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) em 100 campos examinados	relatar o número exato de BAAR encontrados.
10 a 99 BAAR em 100 campos avaliados	+
1 a 10 BAAR por campo em 50 campos examinados	++
mais de 10 BAAR por campo em 20 campos analisados.	+++

FONTE: WHO. **Tuberculosis Control: Surveillance, Planning, Financing**. 2007. Disponível em: < <http://goo.gl/crcjNb> > Acesso em: 28/08/ 2014.

#### 4.5.3.2 Cultura em meio sólido

Todas as amostras de escarro coletadas para pesquisa direta foram submetidas à descontaminação pelo método de Petroff (PETROFF, 1915). Neste método foi utilizado NaOH 1N e depois de dez minutos em estufa a 36°C o material foi centrifugado por 20 minutos. Em seguida o sedimento foi neutralizado com solução de HCl 1N para eliminação de micro-organismos saprófitas e semeado em meio de Lowenstein-Jensen (LJ). Após a inoculação, as amostras foram incubadas a 36°C por um período de 60 dias com avaliação semanal de crescimento. As amostras com crescimento bacteriano foram submetidas ao teste da niacina e, posteriormente, enviadas ao Laboratório Central do Estado do Paraná (LACEN-PR) para identificação fenotípica complementar.

#### 4.5.3.3 Cultura automatizada

Após descontaminação das amostras de escarro utilizando o kit fornecido pelo fabricante BD BBL® MycoPrep® (Becton Dickinson, Japão) para digestão e descontaminação das amostras, foram realizadas culturas automatizadas das amostras respiratórias de todos os pacientes sintomáticos com uso do frasco BD BACTEC® MGIT® com incubação no equipamento automatizado Bactec MGIT 960 TB® (Becton Dickinson, Sparks, MD, EUA). Como sistema de detecção esses tubos de cultura contêm um composto fluorescente, embebido em silicone, capaz de detectar a presença de oxigênio no meio, caso haja micro-organismos consumindo o oxigênio. Esse processo ocasiona a emissão de fluorescência e a possibilidade de detecção pelo equipamento.

Os frascos foram incubados no LACEN-PR por um período máximo de 42 dias a temperatura de 36°C. As amostras com crescimento foram subcultivadas em LJ para identificação da espécie e realização do teste de suscetibilidade a tuberculostáticos.

#### 4.5.3.4 PCR em tempo real

As amostras foram submetidas ao teste de detecção do DNA de *M. tuberculosis* no setor de Biologia Molecular da Unidade de Apoio Diagnóstico (UAD) do HC-UFPR, utilizando o kit comercial MTB Q - PCR Alert Kit (Nanogen®), que é um ensaio qualitativo de PCR em tempo real. Este sistema também é utilizado para confirmar a identificação de micro-organismos detectados em cultivos convencionais.

Todas as amostras de escarro coletadas foram inicialmente tratadas com o kit comercial Biopur® (Biometrix Diagnóstica) para extração do DNA. Foram utilizados PBS para diluição das amostras e tampão lise com lisozima para completar o processo de extração de acordo com as instruções do fabricante.

Em seguida foi extraído o DNA das amostras com o kit EliGene® MTB *Isolation* (Nanogen®) respeitando cuidadosamente as instruções fornecidas pelo fabricante quanto ao volume, temperaturas e tempo.

Para o processo de descontaminação foi utilizada temperatura de 50°C por 2 minutos e para desnaturação foram 10 minutos a 95°C. Para amplificação foram apenas 15 segundos a 95°C, seguindo as instruções do fabricante. Foram utilizados tubos PCR MIX MTB e controle positivo MTB descongelados e homogeneizados suavemente e microplaca de amplificação fornecidos pelo kit.

Durante o procedimento de amplificação foram utilizados PCR MIX-Q MTB, o DNA extraído das amostras, água bidestilada estéril como controle negativo e controle positivo MTB. Após selada, a microplaca foi transferida ao termociclador e iniciado o ciclo de amplificação térmica. Os valores de fluorescência emitida pela sonda para MTB (detector VIC) e pela sonda de controle interno (detector FAM) nas reações de amplificação foram analisados pelo software do aparelho.

Os valores de fluorescência emitida pelas sondas específicas na reação de amplificação e limiar de fluorescência permitem determinar o ciclo de *Threshold* ( $C_T$ ), o ciclo em que a fluorescência atinge o valor limite. Na reação do controle positivo de amplificação, o valor de  $C_T$  da sonda de MTB é usado para validar amplificação e detecção. Com um valor de  $C_T \leq 27$  o resultado do ensaio é considerado positivo, e tanto a amplificação como a detecção podem ser consideradas corretas.

Na reação do controle negativo de amplificação, o valor de  $C_T$  da sonda de MTB é usado para validar amplificação e detecção. Quando o controle negativo da reação MTB (VIC) apresentar  $C_T$  indeterminado, pode-se considerar o resultado do ensaio como negativo e a amplificação e(ou) diluição estão corretos.

Se o resultado da reação do controle negativo é diferente de  $C_T$  indeterminado significa que o DNA alvo foi detectado.

Na reação de amplificação de cada amostra, o valor de  $C_T$  da sonda de MTB é usado para detectar a presença de DNA-alvo. Na reação de amplificação de cada amostra, o valor de  $C_T$  da sonda para o controle interno é usado para validar a amplificação, detecção e extração. Este ensaio tem um limite de detecção de 10 genomas MTB por reação.



Os resultados ( $C_T$ ) para cada amostra são interpretados para a detecção de MTB de acordo com a seguinte TABELA 8.

TABELA 8 – INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DE ACORDO COM A REAÇÃO DA AMOSTRA

REAÇÃO DA AMOSTRA		AMOSTRA	RESULTADO ENSAIO	DNA MTB
MTB (VIC)	Controle interno (FAM)			
$C_T$ indeterminado	$C_T > 30$ ou indeterminado	Inadequada	Inválido	-
	$C_T \leq 30$	Adequada	Válido negativo	Não detectado
$C_T$ determinado	$C_T > 30$ ou $C_T$ indeterminado	Adequada	Válido positivo	Presente
	$C_T \leq 30$	Adequada	Válido positivo	Presente

FONTE: dados fornecidos pelo fabricante

#### 4.5.4 Cultura Automatizada de Amostras de Sangue

Foram realizadas também hemoculturas automatizadas de todos os pacientes sintomáticos. Para este exame, foram coletados 3 a 5 mL de sangue e inoculado em frasco específico, BacT/ALERT®MB (*Middlebrook* 7H9 suplementado com glicerol e SPS) e incubado no equipamento automatizado BacTALERT®3D no setor de Bacteriologia da UAD – HC – UFPR. As amostras que apresentassem crescimento teriam o mesmo tratamento das amostras respiratórias positivas no sistema automatizado BacTALERT®3D.

#### 4.5.5 Identificação do Patógeno e Teste de Sensibilidade

A identificação é realizada mediante análise macroscópica das colônias presentes no meio de cultura sólido, realização de provas fenotípicas, como o PNB (Ácido paranitrobenzóico) e o TCH (Hidrazida do ácido tiofeno 2 carboxílico), e

também análise molecular mediante PCR em tempo real utilizando o kit GenoType® MTBDRplus e GenoType® MTBDRs/ (Hain Lifescience, GmbH, Alemanha).

O teste de sensibilidade é realizado pelo método das proporções em que são testadas as seguintes drogas: rifampicina, isoniazida, etambutol e estreptomicina. O resultado é assegurado mediante utilização de uma cepa padrão H37RV e confirmação de resistências pelo GenoType® MTBDRplus e GenoType® MTBDRs/.e pelo envio do isolado ao Centro de Referência Professor Helio Fraga que realiza o teste de sensibilidade no equipamento BACTEC®MGIT® 960. Estes testes são realizados no LACEN-PR.

#### 4.5.6 Análise Estatística

Os dados obtidos com a pesquisa foram digitados em planilha Excel®, compilados utilizando o software JMP versão 5.2.1 e analisados utilizando o software GraphPad Prism, versão 5.03.

As diferenças dos grupos foram analisadas utilizando o teste exato de Fisher ou qui-quadrado, quando apropriados.

O Teste McNemar foi utilizado para comparação de dois métodos diagnósticos.

Resultados dos dados contínuos foram expressos como medianas e as variações interquartis. Todos os valores de  $p$  foram bicaudais e um  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

A concordância entre os métodos foi avaliada utilizando o coeficiente *Kappa* de Cohen. As características operacionais do teste IGRA foram calculadas considerando com o teste padrão-ouro os resultados da PT.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E EPIDEMIOLÓGICAS

São atendidos no HC-UFPR em torno de 1.400 pacientes portadores do HIV que utilizam as medicações de tratamento contínuo fornecidas pelo hospital. Aproximadamente 99% dessa população é atendida nos ambulatórios de Infectologia e o restante são pacientes gestantes em tratamento em outras clínicas. No período de agosto de 2012 a agosto de 2013 um total de 154 indivíduos HIV positivos, que corresponde a 11% (154/1400) dos pacientes atendidos nos ambulatórios do Serviço de Infectologia do Hospital de Clínicas da UFPR, foram abordados aleatoriamente por critérios de randomização simples, seguindo os critérios de inclusão e exclusão, e convidados a entrar no estudo; aqueles que concordaram em participar da pesquisa assinaram o TCLE (APÊNDICE 1), responderam a um questionário estruturado (APÊNDICE 2) e foram submetidos à realização concomitante dos dois testes, prova tuberculínica e coleta de sangue total para a realização do teste imunoenzimático IGRA. Um total de 14 (9%) pacientes não retornou para realizar a leitura do teste cutâneo e eles foram excluídos do estudo.

Para análise dos dados foram avaliados 140 pacientes, 73 (53%) do sexo feminino e 67 (48%) do sexo masculino, com uma mediana de idade de 45 anos (IIQ de 37 a 52), conforme FIGURA 1.

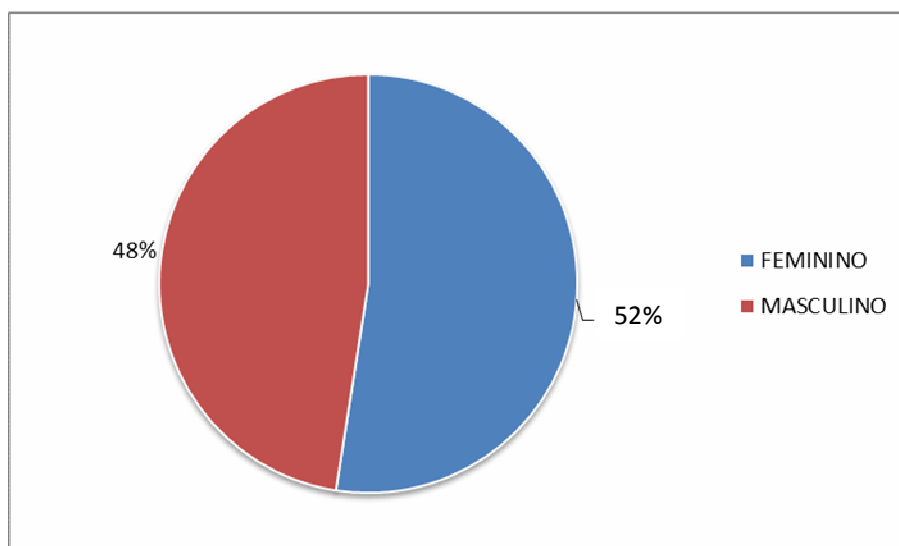


FIGURA 1 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM SEXO  
FONTE: a autora, 2014

A FIGURA 2 mostra a distribuição de acordo com o estado civil dos pacientes; onde do total, 63 deles (43%) são casados, 54 (38%) relatam ser solteiros, 16 (11%) são viúvos e apenas sete (5%) são divorciados.

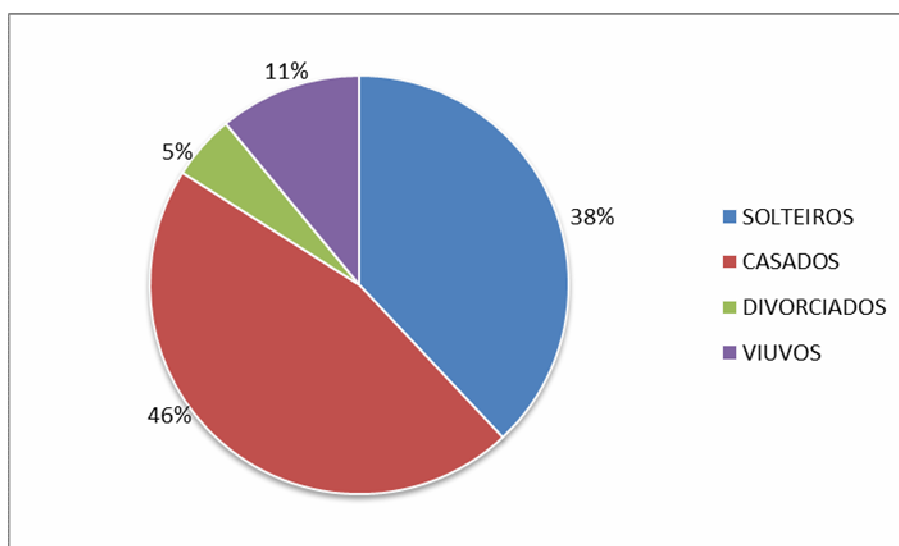


FIGURA 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM ESTADO CIVIL  
FONTE: a autora, 2014

A distribuição por escolaridade está representada na FIGURA 3, que mostra a maioria dos pacientes com estudo incompleto até o nível médio (1 ao 3) e uma pequena parcela de pacientes com nível superior e pós-graduação (5 e 6)

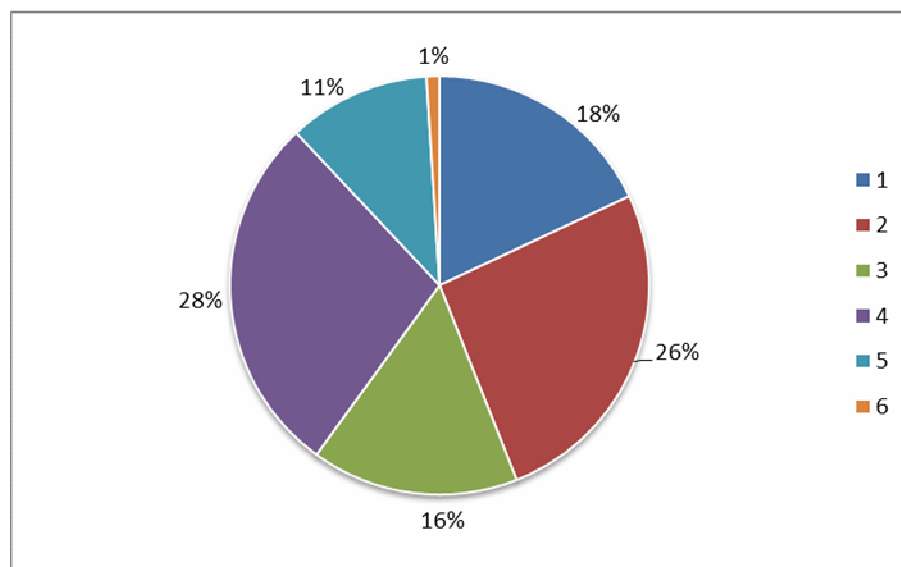


FIGURA 3 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES POR ESCOLARIDADE

NOTA: 1 - Analfabeto ou educação infantil incompleto; 2 - Educação infantil completo ou ensino fundamental incompleto; 3 Ensino fundamental completo ou ensino médio incompleto; 4 - Ensino médio completo; 5 - Terceiro grau; 6 - Pós graduação.

FONTE: a autora, 2014

Entre esses pacientes, a mediana de renda per capita é de R\$ 625,00 ao mês (IIQ 203,40 a 1150,00), sendo que 23% (32 pacientes) relatam o contato com pessoas com diagnóstico de tuberculose. Quanto à vacina da BCG, a maioria, 109 pacientes (78%), relata ter sido vacinada ou possuir marca vacinal. O tempo médio de diagnóstico de HIV entre os pacientes do estudo é de 10 anos (IC 95% 9,1 e 11,1), onde 43 pacientes (30,7%) apresentam carga viral detectável e o restante, 97 (69,3%) não detectável, sendo que a maioria, 121 pacientes (86,4%), relata estar em uso de antirretroviral.

De acordo com a classificação do CDC (FIGURA 4), em que a contagem de linfócitos T CD4+ nadir associados à presença ou não de doenças oportunistas, 55,1% dos indivíduos estão classificados nas categorias A3, B3, C2 e C3, considerados como portadores de aids, apesar da contagem de linfócitos T CD4+ realizada aproximadamente 30 dias antes da consulta, mostrar uma mediana de 496

cel/mm<sup>3</sup> (IIQ 282 a 705) ante a mediana da contagem de linfócitos T CD4+ nadir de 303 cel/mm<sup>3</sup> (IIQ 33 a 303).

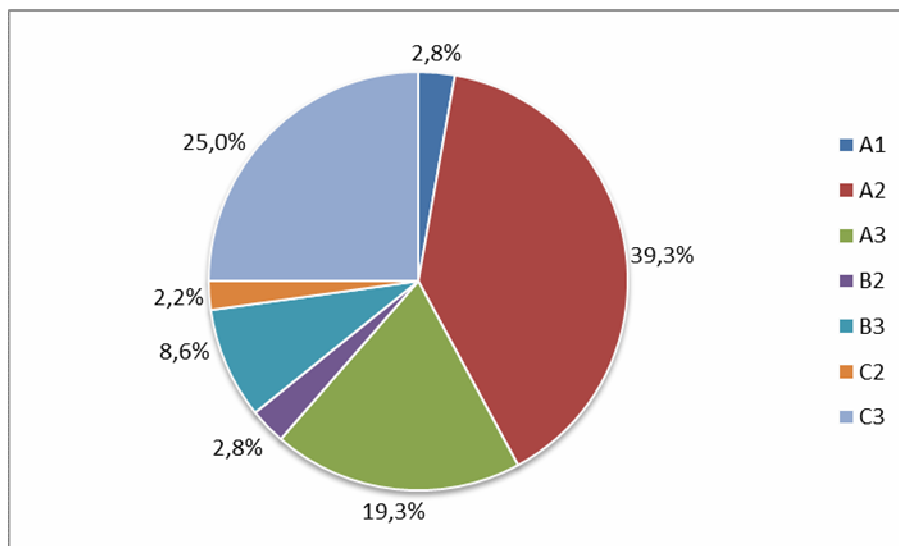


FIGURA 4 – CLASSIFICAÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM CDC

NOTA: A1: Assintomático ou infecção aguda pelo HIV ou linfadenopatia generalizada persistente com LT CD4+ nadir  $\geq 500$ ; A2: Assintomático ou infecção aguda pelo HIV ou linfadenopatia generalizada persistente com LT CD4+ nadir de 200 a 499; A3: Assintomático ou infecção aguda pelo HIV ou linfadenopatia generalizada persistente com LT CD4+ nadir  $< 200$ ; B2: Condições sintomáticas, não A ou não C com LT CD4+ nadir de 200 a 499; C2: Condições indicativas de aids com LT CD4+ nadir de 200 a 499; C3: Condições indicativas de aids com LT CD4+ nadir  $< 200$ .

FONTES: CDC, Centers for Disease Control and Prevention. **Revised Classification System for HIV Infection and Expanded Surveillance Case Definition for AIDS Among Adolescents and Adults**. 1992. Disponível em: < <http://goo.gl/r18d7k> > Acesso em: 13/10/2014; e

Rachid, M & Schechter, M. Manual de HIV/AIDS. Rio de Janeiro: Ed Revinter, 9ª ed. Revisada e Ampliada, 2008

## 5.2 PROVA TUBERCULÍNICA E IGRA

Entre os resultados de PT e IGRA concordantes, observa-se que 115 (82%) pacientes tiveram os dois testes negativos, 9 (6,4%) pacientes tiveram os testes positivos em ambos; já entre as provas discordantes houve 12 (8,6%) pacientes que apresentaram o IGRA positivo com a prova tuberculínica não reatora e apenas quatro (3%) pacientes mostraram a prova tuberculínica reatora com IGRA negativo. Para a comparação dos resultados dos testes PT e IGRA, foram realizadas duas

avaliações, uma comparando as discordâncias obtidas nos testes PT e IGRA utilizando o teste de McNemar, em outra análise verificou-se a relação de dependência entre as duas variáveis.

Na TABELA 9 pode-se observar que não existe evidência estatística de que os dois métodos sejam diferentes, pois as discordâncias ocorrem de forma estatisticamente iguais. Corroborando com este resultado, outras análises demonstram que PT e IGRA não são independentes ( $p < 0,05$ ). A concordância entre os testes PT e IGRA foi avaliada utilizando o coeficiente *Kappa* de Cohen e um valor de 0,214 foi encontrado, demonstrando uma concordância pobre entre estas técnicas.

TABELA 9 – COMPARAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS OBTIDOS PELOS TESTES PROVA TUBERCULÍNICA E IGRA

PROVA TUBERCULÍNICA	IGRA	
	Negativo	Positivo
Negativo	115	12
Positivo	4	9

FONTE: a autora, 2014

NOTA: McNemar  $p = 0,0801$  e Coeficiente *kappa* de Cohen = 0,214

Todos os pacientes com PT reatora realizaram exames de imagem e apenas um paciente com ambos os testes PT e IGRA positivos apresentou tomografia computadorizada mostrando escavação em lobo superior. Este paciente foi encaminhado para tratamento de tuberculose ativa.

A infecção latente por tuberculose (ILTB) foi diagnosticada em 13/140 (9%) pacientes, que apresentaram um resultado de teste tuberculínico igual ou superior a 5mm. Dentre esses pacientes, 7 relatam contato com pessoas com diagnóstico de TB ativa.

Não houve crescimento de micobactérias em nenhuma das amostras de escarro e sangue dos 11 pacientes sintomáticos e também naqueles com resultados positivos para a prova tuberculínica. Dessa forma, isoniazida foi administrada a estes por um período de 6 meses aos diagnosticados com ILTB. Os pacientes que apresentaram somente resultados positivos IGRA não foram tratados e estão em acompanhamento.

A FIGURA 5 mostra a proporção de incremento da população com o diagnóstico de ILTB quando considerados os resultados de ambos os testes – PT e IGRA. Quando analisados os resultados obtidos com os testes PT e IGRA como complementares, pode-se inferir que a utilização de ambas as técnicas permitiria ampliar a detecção dos indivíduos com ILTB de 9% (13 pacientes) para 17% (25 pacientes), ou seja, um incremento de 8% (IC 95%, 7,9 - 8,16,  $p=0,0363$ ).

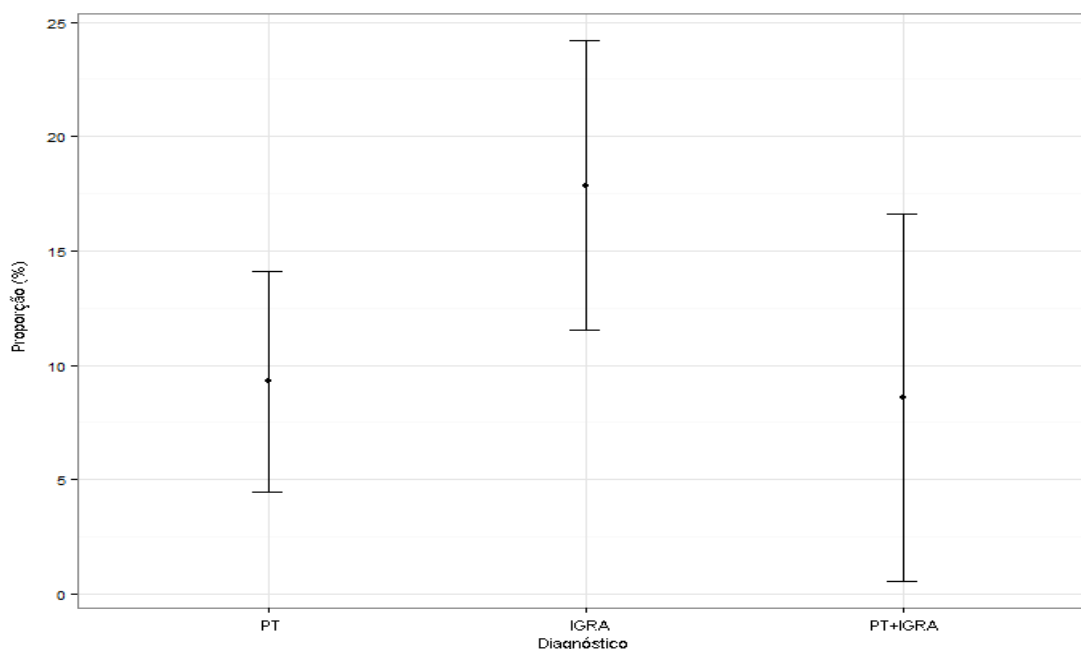


FIGURA 5 – PROPORÇÃO DE INCREMENTO DA POPULAÇÃO COM ILTB CONSIDERANDO OS RESULTADOS DE AMBOS OS TESTES – PT E IGRA  
 FONTE: a autora, 2014

Nota: PT: pacientes com PT reatora – proporção: 0.09; IC (0.0448;0.1410); IGRA: pacientes com IGRA positivo – proporção: 0.178; IC (0.1152;0.2420); PT +IGRA: incremento da população considerada ILTB com PT e IGRA positivos – proporção: 0.085; IC (0.0055;0.1659)

De acordo com os resultados obtidos em ambos os testes para diagnóstico da ILTB (PT e IGRA), os pacientes foram classificados em quatro grupos, dois para os resultados concordantes e os outros dois para os resultados discordantes.

Na TABELA 10 estão descritas as características demográficas epidemiológicas e clínicas nos distintos grupos de pacientes incluídos no estudo. A única variável com diferença significativa nestes grupos foi o relato de contato com indivíduo com tuberculose pulmonar, que foi proporcionalmente mais frequente nos indivíduos que apresentavam os testes IGRA positivos.



TABELA 10 – CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS, EPIDEMIOLÓGICAS E CLÍNICAS DOS PACIENTES ESTUDADOS DISTRIBUÍDOS EM DIFERENTES GRUPOS DE ACORDO COM OS RESULTADOS DOS TESTES IGRA E PROVA TUBERCULÍNICA N=140

VARIÁVEL	GRUPO 1 PT-/IGRA – N = 115	GRUPO 2 PT+/IGRA+ N = 09	GRUPO 3 PT-/IGRA+ N = 12	GRUPO 4 PT+/IGRA- N = 04	P
Idade (anos) mediana (IIQ)	45,1 (36,9 – 52,7)	38,9 (32,1-50,6)	40,1 (31,4 – 49,4)	52,3 (43,8 – 66,3)	0,4125
Renda <i>percapita</i> (R\$) mediana (IIQ)	658,30 (350-1075)	600,00 (351,5 – 950)	800,00 (255 – 1458,3)	300,00 (155,6– 1575)	0,2812
Contato com TB					<b>0,0076</b>
Não	94	3	8	3	
Sim	21	6	4	1	
Tosse					0,8524
Não	99	8	11	3	
Sim	16	1	1	1	
Tempo de tosse					-
< 3 semanas	8	-	1	-	
≥ 3 semana	8	1	-	1	
Vacina BCG					0,5682
Não	25	2	2	2	
Sim	90	7	10	2	
Tempo Diagnóstico de HIV (anos) mediana (IIQ)	10,1 (4,7 – 13,7)	7,1 (6,7 – 9,0)	9,9 (5,3 – 16,3)	13 (5,5 – 22,8)	0,5047
LT CD4+ nadir (cels/mm <sup>3</sup> ) mediana (IIQ)	145 (33 – 303)	272 (219 – 317)	198,5 (120,7-304,7)	228 (61,7 – 290,7)	0,1493
LT CD4+ atual (cels/mm <sup>3</sup> ) mediana (IIQ)	496 (282 – 705)	484 (441,5–916,5)	492,5 (307,8–835,8)	515 (396,5–638,7)	0,6241
Doença oportunista					0,42
Não	81	8	10	2	
Sim	34	1	2	2	
Doença oportunista mais frequente					-
Pneumocistose	8		1	1	
Neurotoxoplasmose/CMV	6				
Candidíase esofágica	6				
Neurocriptococose	3				
Neurotoxoplasmose	2		1		
Outras	9	1		1	
Carga Viral Detec./Indetec.	34/81	1/8	8/4	0/4	-
Tratamento antirretroviral					-
Não	17	1	1	0	
Sim	98	8	11	4	

FONTE: a autora, 2014

NOTA: Negrito = estatisticamente significativo. PT = prova tuberculínica; IGRA = ensaio de liberação de gama interferon; IIQ = intervalo interquartil; Cels/mm<sup>3</sup> = células por milímetro cúbico; TB = tuberculose; ILTB = infecção letente por tuberculose; LT CD4+ = linfócitos T CD4+; CMV = citomegalovírus; Detec. = detectável; Indetec. = indetectável.

A alteração da resposta imune dos pacientes HIV positivos é citada como um fator que pode influenciar no desempenho do teste cutâneo para o diagnóstico da ILTB. Para verificar a relação entre a resposta imune e o estímulo antigênico, analisou-se a correlação entre os valores em milímetros obtidos na prova

tuberculínica (FIGURA 6A) e os valores atuais de linfócitos T CD4+. Além disso, os valores de absorbância óptica obtidos para as reações de teste IGRA contra o antígeno utilizado no kit (FIGURA 6B) e os valores atuais dos linfócitos T CD4+ foram também avaliados e não foi encontrada nenhuma correlação entre as duas comparações.

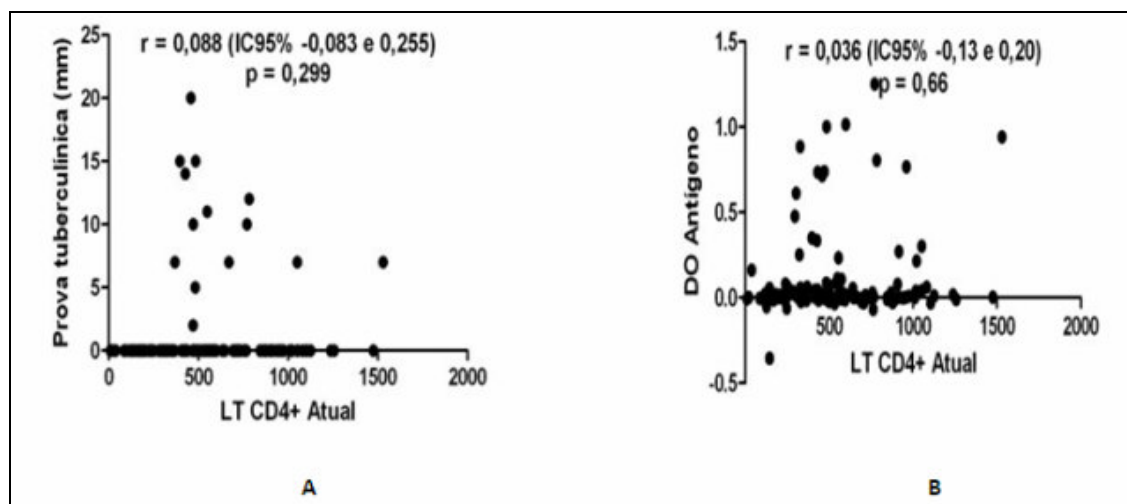


FIGURA 6 - CORRELAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS DE PT (A) OU IGRA (B) E CONTAGENS DE LINFÓCITOS T CD4+

FONTE: a autora, 2014

NOTA: A: resultado da leitura da prova tuberculínica em milímetros correlacionando com a contagem de LT CD4+; B: densidade óptica do tubo antígeno em correlação a contagem de LT CD4+

Os resultados PT reatores foram detectados apenas em pacientes com LT CD4+ acima de 300 células/mm<sup>3</sup>, como mostra a FIGURA 7, enquanto os resultados IGRA positivos foram observados em pacientes com baixos níveis de LT CD4+; porém, tal achado não apresentou significância estatística. Deve-se ressaltar também que apenas 33% dos pacientes apresentaram valor LT CD4+ abaixo de 300 células/mm<sup>3</sup> e as proporções de IGRA positivo/paciente foram 1/5 - 20% (<100 células/mm<sup>3</sup>), 1/25 - 4% (100-300 células/mm<sup>3</sup>) e 19/110 - 17% (> 300 células/mm<sup>3</sup>).

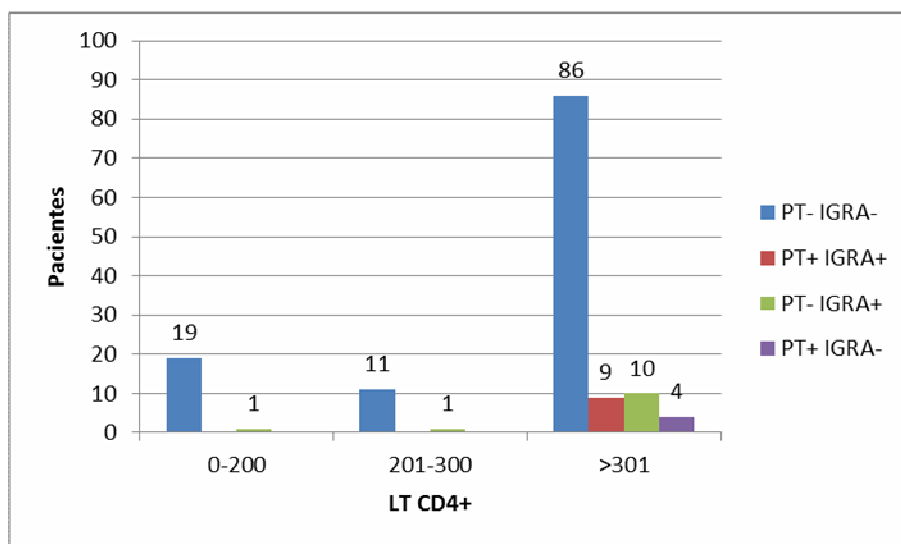


FIGURA 7 – RESULTADOS DE PT E IGRA X CONTAGENS DE LINFÓCITOS T CD4+

FONTE: a autora, 2014

NOTA: Pacientes: número de pacientes envolvidos no estudo; LT CD4+: contagem de linfócitos T CD4+ em células/mm<sup>3</sup>

Considerando o resultado da prova tuberculínica como o padrão-ouro para o diagnóstico da ILTB, a sensibilidade e especificidade do teste IGRA calculados foram 69% (IC 95% 42 a 87) e 90%(IC 95% 84 a 94), respectivamente. Para os cálculos dos valores preditivos positivo, negativo e as razões de probabilidade positiva e negativa foram consideradas diferentes prevalências da tuberculose, que pode variar de 2 a 15%, de acordo com a região do Brasil e o local onde este paciente se encontra em investigação (SINAN) (TABELA 11).

Tabela 11 – CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO DO TESTE IGRA CONSIDERANDO DIFERENTES PREVALÊNCIAS

PREVALÊNCIA	CARACTERÍSTICA	(%)
2%	VPP	12
	VPN	99
	LR+	0,14
	LR-	0,007
5%	VPP	12
	VPN	99
	LR+	0,14
	LR-	0,007
10%	VPP	43
	VPN	96
	LR+	0,76
	LR-	0,38
15%	VPP	55
	VPN	94
	LR+	1,2
	LR-	0,06

VPP = valor preditivo positivo. VPN = valor preditivo negativo. LR+ = razão de probabilidade positiva.

LR- = razão de probabilidade negativa. Sensibilidade = 69%, Especificidade = 90%

FONTE: a autora, 2014

### 5.3 ACOMPANHAMENTO CLÍNICO E LABORATORIAL

Durante o acompanhamento de todos os pacientes incluídos no estudo, 97 (69%) não tiveram novas solicitações de PT, sendo que um paciente foi a óbito e nove já possuíam PT reatoras, não sendo necessária nova aplicação desse exame. Entre os 43 pacientes para os quais que houve a solicitação de nova PT pelo clínico durante a consulta de rotina no ambulatório, 16 pacientes (37,2%) fizeram o teste, mas não retornaram para leitura, e 26 (60,4%) tiveram o teste não reator. Um paciente (2,4%) com teste anteriormente negativo para PT e positivo para IGRA teve seu teste positivo para PT após 12 meses, obtendo então um valor preditivo positivo para progressão de 8,3%.

Os pacientes foram acompanhados durante todo o estudo com uma mediana de três atendimentos (IIQ 1 a 3), sendo que o primeiro retorno após inclusão no estudo ocorreu depois de aproximadamente 6 meses para o qual 98% dos pacientes compareceram. Com o intervalo de tempo de mais de um ano,

observou-se a presença de 83% dos pacientes. Nota-se que os pacientes continuam sendo acompanhados pelo serviço de Infectologia do HC. Ao longo desse acompanhamento, alguns pacientes sintomáticos participaram de investigação para tuberculose. Foram realizadas pesquisas de BAAR pelas metodologias Ziehl Neelsen, cultura de BAAR e pesquisa de MTB por PCR em 11 pacientes. Entre as amostras pesquisadas estão: escarro, urina, líquido, sangue e biópsia. Em nenhum desses exames foi encontrado resultado positivo para *M. tuberculosis*.

Dentre os pacientes excluídos do estudo por não terem comparecido para realizar a leitura do teste cutâneo, foram observados que oito (57,2%) eram do sexo feminino e seis pacientes (42,8%) do sexo masculino, com o predomínio de 57,2% dos pacientes com apenas o ensino fundamental incompleto, restando 21,4% com ensino fundamental completo e 21,4% com ensino médio incompleto. Quanto ao contato com o bacilo da TB, três pacientes (21,5%) relataram contato próximo a pessoas com a doença TB e 11 (78,5%) não tiveram contato com TB.

## 6 DISCUSSÃO

Melhorar os métodos de diagnóstico da ILTB é um passo fundamental para atingir a meta de eliminação da TB no mundo pela proposta do Plano Global pós 2015. Para atingir tal objetivo, indivíduos com risco de desenvolver a doença devem ser identificados e tratados com medicação profilática, visando impedir a progressão para a TB ativa e, conseqüentemente, prevenir a disseminação do *M tuberculosis*. Há a necessidade de que se desenvolvam métodos diagnósticos acurados para a detecção da ILTB e que se realizem análises que avaliem o desempenho destas metodologias em diferentes populações, incluindo indivíduos com ou sem risco de doença ativa, assim como aqueles provenientes de regiões de alta e baixa endemicidade desta doença.

Neste estudo, o desempenho de um teste imunológico que avalia a liberação *ex vivo* de gama interferon por células humanas estimuladas com antígenos específicos do MTB (teste IGRA) foi avaliado em um grupo de pacientes infectados pelo HIV provenientes de um país com alta prevalência de TB como o Brasil. Até este momento, a maior parte dos estudos que avaliaram os testes IGRA para o diagnóstico da ILTB foi realizado em regiões de baixa prevalência da doença e incluiu prioritariamente indivíduos HIV negativos (HORSBURGH; RUBIN, 2011; TIERNAN *et al.*, 2013).

Nos Estados Unidos em que são registrados aproximadamente 3,6 novos casos de TB a cada 100.000 habitantes, a prevalência de ILTB na população em geral é de 4% e entre os coinfectados TB/HIV são notificados menos do que mil novos casos ao ano, devido a esta baixa prevalência, o CDC tem recomendado apenas a utilização de um dos dois testes (PT ou IGRA) para diagnóstico de ILTB, pois devem-se considerar também o custo e as dificuldades de implantar ambas as metodologias na rotina. Além disso, para o diagnóstico de TB ativa pode ser utilizado apenas o teste IGRA (KAPLAN *et al.*, 2009; LINAS *et al.*, 2011).

No Canadá recomenda-se inicialmente a realização da prova tuberculínica, sendo o teste IGRA realizado apenas se aquela for negativa (CANADA, 2008), e no Reino Unido pode ser utilizado qualquer um dos dois testes (HORSBURGH; RUBIN,

2011). Esses países estão levando em consideração a relação custo-efetividade do teste IGRA para diagnóstico de ILTB por apresentarem baixa prevalência. (LINAS *et al.*, 2011). Ademais, como não há dados publicados sobre a eficácia da terapia preventiva em indivíduos PT negativos com IGRA positivo, a conduta para tratamento ou não da ILTB se dá por meio da avaliação pelo clínico de benefícios potenciais de detectar mais pessoas com resultados positivos (CANADA, 2008).

Até o presente momento, o teste IGRA não é recomendado no Brasil pelo Ministério da Saúde para diagnóstico de ILTB nem da TB ativa, mas sim, apenas a prova tuberculínica (BRASIL, 2011).

A detecção da ILTB em populações portadoras do HIV é extremamente relevante uma vez que a tuberculose tem importante impacto na sobrevida desses pacientes. Neste contexto, esta nova metodologia foi comparada com o teste cutâneo em 140 pacientes portadores do HIV que residem em uma região de alta prevalência de TB.

A comparação dos resultados do teste IGRA com a prova tuberculínica mostrou uma baixa concordância entre ambos, com uma maior prevalência de testes IGRA positivos. Foram excluídos da pesquisa os indivíduos com doença ativa ou diagnóstico recente de ILTB, uma vez que o maior desafio atual na abordagem dos pacientes HIV positivos é a detecção da ILTB.

Os pacientes incluídos no estudo possuem um tempo prolongado de diagnóstico de HIV, com uma mediana de 9,9 anos, sendo que a maioria (55,1%) desses pacientes está classificada nas categorias A3, B3, C2 e C3, segundo o CDC (1992). Apesar de não apresentarem diferença estatística entre eles, pode-se dizer que estão imunossuprimidos e por isso necessitam ser prioritariamente investigados para ILTB, pois são assintomáticos e residem em uma região de alta prevalência da doença, podendo desenvolver a TB pós-primária por meio de reativação ou reinfeção do bacilo da tuberculose. Nesses casos, é importante o diagnóstico da ILTB para início do tratamento com INH na tentativa de reduzir a incidência da TB (De PINHO *et al.*, 2001; LAWN; WOOD; WILKINSON, 2011).

De um modo geral, a maioria dos pacientes incluídos nesta pesquisa estava em uso de terapia antirretroviral e se apresentava estável do ponto de evolução HIV por possuírem uma mediana de LT CD4+ acima da mediana de LT CD4+ nadir.

Entre os pacientes em uso de TARV também observamos uma parcela deles com carga viral detectável o que demonstra ainda maior preocupação diante da possibilidade da tomada irregular da medicação e possibilidade de aquisição de doenças oportunistas e resistência aos medicamentos.

Alguns estudos relatam que o teste IGRA poderia ter melhores resultados do que a PT na identificação da ILTB em pacientes com maiores graus de imunossupressão, e que a prova tuberculínica deveria ser utilizada em casos de contagens de LT CD4+ acima de 400 células/mm<sup>3</sup> e o teste IGRA para os demais pacientes (WOLF *et al.*, 2013).

No entanto, nas análises realizadas no presente estudo não foi possível observar correlação entre os resultados obtidos de PT e IGRA, e a contagem de linfócitos T CD4+ dos pacientes, pois não se observou diferença estatística entre os métodos baseados nos resultados de LT CD4+ nadir ( $p = 0,1493$ ) e de LT CD4+ atual ( $p = 0,6241$ ) e os testes PT e IGRA. Porém, deve-se ressaltar que a quantificação do LT CD4+ é apenas uma das maneiras de se avaliar a resposta imune celular de rotina nos indivíduos HIV+, nenhum teste foi realizado para avaliar qualitativamente a resposta imune celular dos indivíduos incluídos no estudo. Além disso, deve-se destacar que em pacientes com valores de LT CD4+ inferior a 300 células/mm<sup>3</sup> apenas o teste IGRA apresentou positividade, sendo que neste grupo de pacientes onde foi encontrada a maior discordância de resultados entre as metodologias, o que ressalta a necessidade de maiores estudos com grupos de pacientes com baixos valores de LT CD4+.

Nesta avaliação, observou-se uma baixa concordância entre os resultados obtidos pelos testes IGRA e PT, demonstrando que um teste não pode ser utilizado para substituir o outro; provavelmente estas metodologias devam ser utilizadas como complementares, optando-se por realizar uma ou outra técnica a depender das características do paciente. Por exemplo, em situações em que o paciente tenha dificuldade de retornar para realizar a leitura do teste cutâneo, fato que ocorreu em 9% dos indivíduos incluídos na pesquisa, ou em casos em que fizeram teste cutâneo em um período curto de tempo, ou ainda história de vacinação com BCG recente, deve-se optar por realizar a metodologia do IGRA, pois estes fatores alteram a avaliação da PT, porém não interferem no teste IGRA. Reforçando esta afirmativa,



vários autores, como Menzies (1999) e Pai (2007) entre outros, mostram em suas publicações que se deve considerar as importantes limitações da PT, pois reconhecidamente sabe-se de sua baixa sensibilidade e dificuldades técnicas de execução (MENZIES, 1999; PAI; MENZIES, 2007; STOUT; MENZIES, 2008).

Considerando os resultados obtidos com os testes PT e IGRAs como complementares, a utilização de ambas as técnicas permitiria ampliar a detecção dos indivíduos com ILTB de 9% (13 pacientes) para 17% (25 pacientes), incremento de 8%. Em estudos realizados em pacientes com HIV no Reino Unido observa-se 25 pacientes (36,7%) com diagnóstico de ILTB com apenas a PT positiva. Ao considerar os testes PT e IGRAs como complementares observa-se um incremento de 5,9% na detecção de ILTB (TIERNAN, *et al.*, 2013). Levando em consideração o fato de o Brasil estar entre os 22 países com as mais altas cargas em tuberculose no mundo, uma população com maior risco de desenvolver a TB estaria sendo tratada, o que certamente contribuiria para um menor percentual de pacientes coinfectados por HIV/TB. Porém, deve-se ressaltar que mais estudos devem ser realizados para comprovar tais achados, assim como uma criteriosa avaliação de impacto financeiro da adoção de tais medidas, pois os testes IGRAs são de alto custo. Uma maneira de tentar viabilizar a introdução desta nova metodologia nos laboratórios seria a recomendação de o teste IGRAs ser realizado apenas nos indivíduos com PT negativa.

Não se observou influência da presença de vacinação com BCG em nenhum dos dois testes, mas deve-se destacar que a maioria dos pacientes foi vacinada na primeira infância (109/140 - 77,8%), ou seja, a estimulação imunológica ocorreu há muitos anos, o que pode ter contribuído para este achado. Alguns estudos mostram que apenas 8% das pessoas que receberam a vacina da BCG ao nascimento tiveram um teste reator para a prova tuberculínica 15 anos mais tarde (JASMER; NAHID; HOPEWELL, 2002). Em países como a Dinamarca, a vacina da BCG deixou de ser um procedimento de rotina contra a tuberculose na primeira infância durante as décadas de 1970 e 1980 levando a um grande número de indivíduos não vacinados (BROCK *et al.*, 2004) e, nos Estados Unidos, a BCG não é recomendada nos programas de imunização, influenciando inclusive nos resultados das pesquisas (ROSS; GOFF, 2005).

Entre os pacientes incluídos nesse estudo observa-se frequente relato de contato com pessoas com tuberculose pulmonar que foi estatisticamente significativo, embora a maioria estivesse assintomática, este fato deve ser visto como um sinal de alerta para o clínico que está realizando o acompanhamento deste paciente, pois a exposição à TB pode ser acompanhada de alta frequência de ILTB, devendo ser inclusive recomendado o TILTB nestes indivíduos, independente do resultado da PT.

Todos os pacientes incluídos na pesquisa foram monitorados por período mediano de 12 meses (variando entre 6 até 21 meses). Dentro desse período houve um óbito que não foi relacionado à tuberculose (paciente com PT e IGRA negativos) e um paciente com resultado de IGRA positivo e PT negativo apresentou a viragem da prova tuberculínica, indicando possivelmente que o teste IGRA apresentou um resultado positivo precocemente à prova tuberculínica.

Neste estudo obtiveram-se resultados concordantes e discordantes entre ambas as metodologias, conforme literatura publicada por diversos autores (HERRERA *et al.*, 2011; LAWN; WOOD; WILKINSON, 2011). Observa-se neste estudo um dado interessante: nenhum teste IGRA realizado apresentou resultados indeterminados, resultado este reportado com frequência por outros autores, principalmente quando realizados em pacientes portadores do HIV-1 (AICHELBURG *et al.*, 2012). Como em relatos de Oni *et al.* (2012) em que foram realizados estudos com 561 pessoas assintomáticas residentes no continente africano, portadoras ou não do HIV. Era uma região com aproximadamente 400.000 habitantes, onde foram notificados em 2008, mais de 1.600 casos de TB por 100.000 habitantes e com prevalência de HIV de 29%. Dois terços desses casos de tuberculose foram notificados em pessoas coinfectadas TB/HIV. A prevalência de resultados indeterminados com o teste IGRA foi de 8,6% (48/561) sendo que os maiores índices estavam entre os infectados pelo HIV 11,5% (38/330) em relação aos não infectados 4,3% (10/231) (p 0,003) (ONI *et al.*, 2012).

Aichelburg *et al.* (2012) relataram 5,8% de resultados de teste IGRA indeterminados em um estudo prospectivo realizado em um país de baixa incidência de TB em que foram estudados 948 pacientes durante três anos. Todos os resultados indeterminados mostraram uma resposta inadequada no tubo controle

positivo, ou seja, baixa reação ao mitógeno, e eram provenientes de pessoas usuárias de drogas injetáveis. Analisando os fatores que poderiam estar associados aos resultados indeterminados, foram comparados a presença de aids e(ou) risco de morte pelo HIV, idade superior a 30 anos, sexo masculino, contagem de células T CD4+ inferior a 100 células/mm<sup>3</sup>, carga viral superior a 100.000 cópias/mL e uso de antirretroviral. Somente a presença de carga viral superior a 100.000 cópias/mL foi estatisticamente significativo (AICHELBURG *et al.*, 2012).

No estudo de Aichelburg *et al.* (2012) foi possível verificar que a mediana de células T CD4+ dos pacientes com QFT indeterminado foi menor que a mediana encontrada nos pacientes com células T CD4+ com valores determinados (188 células/mm<sup>3</sup>, IC 95% 75-363 e 393 células/mm<sup>3</sup>, IC 95% 269,5-565,5 células/mm<sup>3</sup>, respectivamente) (AICHELBURG *et al.*, 2012) No presente estudo não foi possível realizar tal comparação uma vez que não foram encontrados resultados indeterminados, possivelmente em função de o número de pacientes estudados ser menor e estes estarem em melhores condições imunológicas, apresentando mediana de LT CD4+ 496 células/mm<sup>3</sup> (IC 95% 282 a 705 células/mm<sup>3</sup>).

A execução da técnica do teste IGRA utilizando o kit QuantiFERON TB Gold In Tube® deve ser realizada com bastante rigor, desde a fase inicial da coleta, transporte até a execução do ensaio imunoenzimático, pois todas estas etapas podem influenciar diretamente no resultado do teste, uma vez que este kit possui várias fases peculiares do momento da coleta até análises dos resultados. Já no procedimento inicial, após a coleta do sangue periférico do paciente, é necessária a correta homogeneização da amostra. Segundo Pai *et al.*, volumes de sangue 0,8 ou 1,2 mL resultam na diminuição de resposta do interferon gama em casos de pacientes infectados, diminuindo a proporção de resultados positivos (PAI *et al.*, 2014). Se houver uma agitação vigorosa dos tubos, pode ocorrer um aumento da resposta do interferon gama nos tubos controle negativo e mitógeno causando assim uma elevação também no tubo antígeno (GAUR; PAI; BANAEI, 2013).

A incubação dos tubos em estufa a 36°C também é considerada crítica em relação ao tempo e à temperatura corretos. Alguns autores descrevem que, em indivíduos com alto risco de ILTB, pode ocorrer de reversão dos resultados de positivo para negativo em casos em que há demora na colocação da amostra para

incubação após a coleta do material, cujo atraso de até 6 horas leva a uma reversão de 19% das amostras e de 22% com atrasos de até 12 horas (PAI *et al.*, 2014). Essa demora na incubação reduz a resposta do mitógeno no ensaio QFT e aumenta, inclusive, a possibilidade de resultados indeterminados (HERRERA. *et al.*, 2011; SLATER; PARSONNET; BANAEI, 2012).

Também tem sido ressaltado por alguns autores as dificuldades técnicas na realização do imunoensaio, que podem levar a resultados discordantes, principalmente quando a resposta ao antígeno TB é muito próxima ao valor de corte do ensaio, e também quando realizados em diferentes laboratórios (PAI *et al.*, 2014).

O *software* fornecido pelo fabricante propicia uma análise dos controles de qualidade e das absorbâncias dos tubos. Os mitógenos devem ser analisados para verificar a presença de possíveis baixos valores. Uma baixa reação de mitógeno ( $<0,5\text{UI/mL}$ ) indica um resultado indeterminado. Isso ocorre quando há uma quantidade de linfócitos insuficientes, ou também pode ser devido à manipulação incorreta dos tubos coletados, agitação incorreta do tubo de mitógeno ou ainda porque os linfócitos do pacientes são incapazes de produzir gama interferon.

Apesar de serem considerados testes para identificar infecção por MTB com maior especificidade, pois a estimulação imunológica feita pelos antígenos presentes no tubo teste simulam a ação das proteínas ESAT-6, CFP-10 e TB7.7(p4) que são capazes de estimular a produção de gama interferon nos linfócitos T de indivíduos infectados com o *M. tuberculosis*, alguns autores descrevem a possibilidade de reação cruzada entre ESAT-6 e CFP-10 do *M. tuberculosis* e *M. leprae* (PAI *et al.*, 2014).

Cuidados devem ser tomados quanto à ordem de coleta do sangue periférico para teste IGRA e a aplicação da PT. Alguns autores descrevem o aumento da resposta ao antígeno TB com o kit QFT quando este é coletado três dias após a aplicação da PT devido à ativação de células de memória aos antígenos TB. O efeito *booster* da prova tuberculínica já é bem descrito em literatura (BROCK *et al.*, 2001; JASMER; NAHID; HOPEWELL, 2002; MENZIES; PAI; COMSTOCK, 2007; STOUT; MENZIES, 2008), o que não ocorre com o teste IGRA quando são coletados antes da aplicação da PT, uma vez que a pesquisa do antígeno ocorre *ex vivo* (PAI *et al.*, 2014).

Os cálculos de especificidade encontrados neste estudo, de 90% (IC 84 a 94%), estão um pouco abaixo em relação a dados publicados em uma meta-análise por Diel *et al.* (2011) na qual a soma da especificidade em quatro estudos foi de 99,4% (IC 95% 97,9 – 99,9%). Também em relação aos valores de VPN, neste estudo encontrou-se 96% (IC 95% 91 - 98%), acima dos dados de literatura, em que a média de VPN encontrada foi de 88% (IC 95% 84,6% - 91,5%). No entanto, deve-se ressaltar que os valores preditivos positivos e negativos calculados a partir dos dados de sensibilidade e especificidade, devem ser considerados apenas se a prevalência da doença nos grupos positivos (com TB) e negativos (sem TB) refletem a sua real prevalência, caso contrário estes valores não podem ser estimados. Como a prevalência de tuberculose apresenta diferentes percentuais dependendo da complexidade do local de atendimento do paciente e da região do País onde o paciente vive, decidiu-se por avaliar o desempenho dos testes considerando diferentes prevalências variando entre 2 a 15%. Pode-se observar que os valores preditivos positivo e negativo do teste IGRAs variaram de 12 a 55% e de 94 a 99%, respectivamente. Ressaltando que o teste IGRAs poderá ajudar mais na definição diagnóstica de pacientes em investigação provenientes de locais onde a prevalência de TB for maior que 15%.

Na meta-análise realizada por Diel *et al.* (2011), os autores citam a falta de estudos com métodos sorológicos como o IGRAs e as dificuldades encontradas para substituir a PT. Para os cálculos de especificidade, VPN e VPP do IGRAs foram associados à progressão para TB ativa entre pacientes que tiveram contato com a tuberculose por meio de uma revisão sistemática que partiu da análise de 432 estudos potenciais para finalizar com 60 estudos incluídos na revisão. Além da correlação da PT e IGRAs com a vacina da BCG, foram avaliados estudos longitudinais com seguimento para ILTB nos cálculos de VPN e estudos longitudinais para VPP para progressão da doença, em que 2,8, a 14,3% dos pacientes com IGRAs positivo desenvolveram TB ativa (DIEL *et al.*, 2011).

Para este estudo, utilizou-se como padrão-ouro o resultado da PT, dificultando a comparação com dados publicados em literatura, na qual o padrão-ouro foi o desenvolvimento da TB doença ativa em estudos longitudinais. Vários estudos de especificidade, VPP e VPN são conduzidos em países de baixa

prevalência de TB, em populações de baixo risco e em que não há evidência ou suspeita de ILTB ou TB doença, todo o indivíduo com teste positivo é considerado um resultado falso-positivo justamente pelo fato de estar em um país de baixa prevalência de TB. É considerado um teste verdadeiro positivo quando este teve o contato com TB pulmonar e seu teste deu positivo. A comparação com a PT neste estudo, que é um teste de baixa sensibilidade, leva a cálculos de VPN considerados bons e VPP abaixo do esperado em literatura. Além disso, alguns pacientes com diagnóstico de ILTB naqueles estudos recusaram o tratamento, possibilitando assim a formação de um coorte de indivíduos com IGRA positivo sem intervenção terapêutica, o que permitiu uma avaliação mais fidedigna dos valores de sensibilidade e VPP do teste imunológico (DIEL *et al.*, 2011).

No presente estudo, foram também observados dois grupos de resultados para os testes IGRA positivo: os que apresentaram a PT positiva diagnosticados como ILTB e que entraram com tratamento com isoniazida, e aqueles com PT negativa que não foram tratados por não ser o protocolo do recomendado pelo Ministério da Saúde do Brasil, tais pacientes continuam sendo acompanhados. São doze pacientes deste grupo, onde um deles apresentou conversão da PT, progrediu para ILTB. Se considerarmos os cálculos de VPP para progressão de TB doença ativa, observa-se que nenhum paciente desenvolveu TB durante o acompanhamento. Mas considerando esse paciente em que foi detectada a ILTB por meio da PT reatora após um ano da realização do IGRA com resultados discordantes inicialmente, obtém-se um valor de VPP para progressão como mostra a literatura, pois analisando os cálculos de VPP para progressão de TB ativa publicados por Diel *et al.* (2011) verifica-se que para a PT esses dados variam entre 2,3 a 3,3% e para o IGRA utilizando o QuantiFERON Gold In Tube de 2,8 a 14,3% (DIEL *et al.*, 2011). Os dados encontrados neste estudo são preliminares uma vez que os pacientes com resultados discordantes de PT não reatoras e IGRA positivos ainda serão acompanhados no decorrer dos anos para verificar a probabilidade de evolução para TB doença, buscando sempre a detecção precoce da doença ativa. Em países de baixa prevalência como os Estados Unidos e na Europa a associação dos dois testes é utilizada para recomendar o tratamento de ILTB. No Brasil, onde a prevalência da TB doença é tão alta e encontramos altas taxas de mortalidade,

identificar a ILTB e iniciar o tratamento com isoniazida como forma de prevenção a doença, principalmente em casos de coinfeção TB/HIV pode ser uma estratégia útil.

Este é o primeiro estudo realizado no Brasil, um país de alta prevalência de TB, com pacientes portadores do HIV. Outros estudos de coorte estão sendo desenvolvidos no país e os resultados devem ser analisados em conjunto, de preferência com a mesma metodologia, para que a partir disso seja possível concluir se houve ou não o benefício para os pacientes envolvidos com o tratamento da ILTB por meio do diagnóstico pela metodologia proposta.

## 7 CONCLUSÕES

O teste IGRA não se mostrou superior à prova tuberculínica para detecção da ILTB.

Para a avaliação do teste IGRA foi considerada a PT como padrão ouro e foram encontrados os valores de sensibilidade de 69% (IC 95% 42 a 87), especificidade de 90% (IC 95% 84 a 94), valor preditivo positivo de 42% (IC 95% 24 a 63) e valor preditivo negativo de 96% (IC 95% 91 a 98).

Não foi observada nenhuma alteração clínica ou laboratorial específica que justifique o resultado do IGRA, mesmo naqueles com resultados discordantes de IGRA positivo e PT negativa e valores de LT CD4+ inferior a 200 células/mm<sup>3</sup> por não haver diferença estatística.

Durante todo o período de acompanhamento dos pacientes incluídos nesta pesquisa nenhum paciente desenvolveu TB ativa.



## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O diagnóstico da infecção latente pelo *M tuberculosis* em pessoas vivendo com HIV/aids continua como um desafio. A baixa reatividade da prova tuberculínica e o impacto na mortalidade dos indivíduos que apresentam a coinfeção TB/HIV destacam a necessidade de avaliação de novas metodologias diagnósticas deste agravo. Vários estudos demonstram o benefício que o reconhecimento e tratamento da ILTB podem levar à redução da morbi-mortalidade dos pacientes coinfectados pelo HIV, e esta deve ser feita precocemente, independentemente do grau de imunodepressão. Em busca do diagnóstico da ILTB procuram-se testes mais sensíveis e específicos do que a PT para pacientes com imunodepressão. Com esta pesquisa foi possível mostrar uma alternativa laboratorial na detecção de infecção latente pelo bacilo da tuberculose, principalmente para a população alvo deste estudo, que são os pacientes portadores do HIV. A divulgação destes resultados com uma avaliação crítica desta nova metodologia permitirá definir a possibilidade de sua introdução na prática diária.

Observando ainda o crescente número de pacientes que não retornam para leitura da PT e avaliando os benefícios do teste IGRA, convém ressaltar a importância do estudo dessa população e os possíveis benefícios do novo teste para esta população. Sugere-se ainda que sejam investigadas as populações que não retornam para leitura como condições socioeconômicas, grau de instrução, distância percorrida até o local de aplicação e leitura do teste, entre outras variáveis.

## REFERÊNCIAS

AICHELBURG, M. C. *et al.* Prognostic value of indeterminate IFN-gamma release assay results in HIV-1 infection. **J Clin Microbiol**, v. 50, n. 8, p. 2767-9, Aug 2012.

ANDERSEN, P. *et al.* Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. **Lancet**, v. 356, n. 9235, p. 1099-104, 2000.

ATS, American Thoracic Society and CDC, Centers for Disease Control and Prevention. **Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection**. Disponível em: < <http://goo.gl/mBLOFw> > Acesso em: 12/10/2014.

AZEVEDO, O. P.; ALMEIDA, R. L. V.; BAHIANSE, A. L. M. **Boletim Epidemiológico. Capacitação de profissionais do HSE-RJ na testagem do PPD**. 20\_\_\_. Disponível em: < <http://goo.gl/Et36x3> >. Acesso em: 25/08/2014.

BARNES, P. F. Diagnosing latent tuberculosis infection: turning glitter to gold. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 170, n. 1, p. 5-6, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Plano Nacional de Controle da Tuberculose**. Brasília - DF. 1999 Disponível em < <http://goo.gl/DXYf9E> > Acesso em: 13/10/2014.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil**. 1 ed. Brasília, DF. Ministério da Saúde, 2011.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Boletim epidemiológico - Especial Tuberculose**. 2012. Secretaria de Vigilância em Saúde. Disponível em: < <http://goo.gl/pGkU1U> > Acesso em: 12/10/2014.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico HIV aids**. 2013a. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Disponível em: < <http://goo.gl/1Zkk55> > Acesso em: 16/10/2014.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV**. 2013b. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Disponível em: < <http://goo.gl/m6mm4K> > Acesso em: 13/10/2014.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Controle da Tuberculose**. 2013c. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Geral de Doenças Endêmicas. Área Técnica de Pneumologia Sanitária. Disponível em: < <http://goo.gl/U5PEdL> > Acesso em: 13/10/2014.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Adultos Vivendo com HIV/AIDS**. 2013d. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Disponível em: < <http://goo.gl/moYo3Qul> > Acesso em: 13/10/2014.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Aids: etiologia, clínica, diagnóstico e tratamento**. 2014a. Disponível em: < <http://goo.gl/YCrflP> >. Acesso em: 22/04/2014.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico. O controle da Tuberculose no Brasil: avanços, inovações e desafios**. 2014b. Disponível em < <http://goo.gl/vX1kAe> > Acesso em: 13/10/2014.

\_\_\_\_\_. Ministério da Previdência Social. **HIV/AIDS**. 2014c. Disponível em: < <http://goo.gl/3gf475> > Acesso em: 13/10/2014.

BROCK, I. *et al.* Performance of whole blood IFN-gamma test for tuberculosis diagnosis based on PPD or the specific antigens ESAT-6 and CFP-10. **Int J Tuberc Lung Dis**, v. 5, n. 5, p. 462-7, 2001.

BROCK, I. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 170, n. 1, p. 65-9, 2004.

CANADA. Public Health Agency of Canada. **Updated Recommendations on Interferon Gamma Release Assays for Latent Tuberculosis Infection**. 2008. Disponível em: < <http://goo.gl/k3D1k9> > Acesso em: 12/10/2014.

CDC, Centers for Disease Control and Prevention. **Revised Classification System for HIV Infection and Expanded Surveillance Case Definition for AIDS Among Adolescents and Adults**. 1992. Disponível em: < <http://goo.gl/r18d7k> > Acesso em: 13/10/2014.

CASTRO, K. G. *et al.* Revised Classification System for HIV Infection and Expanded Surveillance Case Definition for AIDS Among Adolescents and Adults. **CONTROL**, C. F. D. USA 1992.

COHEN, T. *et al.* Beneficial and perverse effects of isoniazid preventive therapy for latent tuberculosis infection in HIV-tuberculosis coinfecting populations. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 103, n. 18, p. 7042-7, 2006.

DE PINHO, A. M. *et al.* Chemoprophylaxis for tuberculosis and survival of HIV-infected patients in Brazil. **AIDS**, v. 15, n. 16, p. 2129-35, 2001.

DHEDA, K. *et al.* Global control of tuberculosis: from extensively drug-resistant untreatable tuberculosis. **Lancet Respir Med**. 1-18 p. 2014.

DIEL, R. *et al.* Interferon- $\gamma$  release assays for the diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection: a systematic review and meta-analysis. **Eur Respir J**, v. 37, n. 1, p. 88-99, 2011.

\_\_\_\_\_. Negative and positive predictive value of a whole-blood interferon-gamma release assay for developing active tuberculosis: an update. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 183, n. 1, p. 88-95, 2011.

DOBLER, C. C.; LUU, Q.; MARKS, G. B. What patient factors predict physicians' decision not to treat latent tuberculosis infection in tuberculosis contacts? **PLoS One**, v. 8, n. 9, p. e76552, 2013.

DOBLER, C. C.; MARKS, G. B. Completion of treatment for latent tuberculosis infection with monthly drug dispensation directly through the tuberculosis clinic. **PLoS One**, v. 7, n. 11, p. e48900, 2012.

DYBUL, M. *et al.* Guidelines for using antiretroviral agents among HIV-infected adults and adolescents. Recommendations of the Panel on Clinical Practices for Treatment of HIV. **MMWR Recomm Rep**, v. 51, n. RR-7, p. 1-55, 2002.

DYE, C. *et al.* Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. **JAMA**, v. 282, n. 7, p. 677-86, 1999.

EWER, K. *et al.* Comparison of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection in a school tuberculosis outbreak. **Lancet**, v. 361, n. 9364, p. 1168-73, 2003.

FIEBIG, E. W. *et al.* Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. **AIDS**, v. 17, n. 13, p. 1871-9, 2003.

GAUR, R. L.; PAI, M.; BANAEI, N. Impact of blood volume, tube shaking, and incubation time on reproducibility of QuantiFERON-TB gold in-tube assay. **J Clin Microbiol**, v. 51, n. 11, p. 3521-6, 2013.

GOLUB, J. E. *et al.* The impact of antiretroviral therapy and isoniazid preventive therapy on tuberculosis incidence in HIV-infected patients in Rio de Janeiro, Brazil. **AIDS**, v. 21, n. 11, p. 1441-8, 2007.

HERRERA, V. *et al.* Clinical application and limitations of interferon-gamma release assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection. **Clin Infect Dis**, v. 52, n. 8, p. 1031-7, 2011.

HORSBURGH, C. R., JR.; RUBIN, E. J. Clinical practice. Latent tuberculosis infection in the United States. **N Engl J Med**, v. 364, n. 15, p. 1441-8, 2011.

HUF, G.; KRITSKI, A. Evaluation of the clinical utility of new diagnostic tests for tuberculosis: the role of pragmatic clinical trials. **J Bras Pneumol**, v. 38, n. 2, p. 237-45, 2012.

JASMER, R. M.; NAHID, P.; HOPEWELL, P. C. Clinical practice. Latent tuberculosis infection. **N Engl J Med**, v. 347, n. 23, p. 1860-6, 2002.

KAPLAN, J. E. *et al.* Guidelines for prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents: recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. **MMWR Recomm Rep**, v. 58, n. RR-4, p. 1-207; quiz CE1-4, Apr 2009.

KIET, V. S. *et al.* Evaluation of the MTBDRsl test for detection of second-line-drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **J Clin Microbiol**, v. 48, n. 8, p. 2934-9, 2010.

LAWN, S. D.; BADRI, M.; WOOD, R. Tuberculosis among HIV-infected patients receiving HAART: long term incidence and risk factors in a South African cohort. **AIDS**, v. 19, n. 18, p. 2109-16, 2005.

LAWN, S. D.; WOOD, R.; WILKINSON, R. J. Changing concepts of "latent tuberculosis infection" in patients living with HIV infection. **Clin Dev Immunol**, v. 2011, 2011.

LINAS, B. P. *et al.* Priorities for screening and treatment of latent tuberculosis infection in the United States. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 184, n. 5, p. 590-601, 2011.

LOBUE, P.; MENZIES, D. Treatment of latent tuberculosis infection: An update. **Respirology**, v. 15, n. 4, p. 603-22, 2010.

MAARTENS, G. **Epidemiology, clinical manifestations, and diagnosis of tuberculosis in HIV-infected patients.** 2014. Disponível em: < <http://goo.gl/cERuAS> > Acesso em: 26/08/2014.

MAZUREK, G. H. *et al.* Comparison of a whole-blood interferon gamma assay with tuberculin skin testing for detecting latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. **JAMA**, v. 286, n. 14, p. 1740-7, 2001.

MENZIES, D. Interpretation of repeated tuberculin tests. Boosting, conversion, and reversion. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 159, n. 1, p. 15-21, 1999.

MENZIES, D.; PAI, M.; COMSTOCK, G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. **Ann Intern Med**, v. 146, n. 5, p. 340-54, 2007.

MENZIES, R.; VISSANDJEE, B. Effect of bacille Calmette-Guerin vaccination on tuberculin reactivity. **Am Rev Respir Dis**, v. 145, n. 3, p. 621-5, 1992.

MTEI, L. *et al.* High rates of clinical and subclinical tuberculosis among HIV-infected ambulatory subjects in Tanzania. **Clin Infect Dis**, v. 40, n. 10, p. 1500-7, 2005.

ONI, T. *et al.* Risk factors associated with indeterminate gamma interferon responses in the assessment of latent tuberculosis infection in a high-incidence environment. **Clin Vaccine Immunol**, v. 19, n. 8, p. 1243-7, 2012.

PAI, M. *et al.* Gamma interferon release assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. **Clin Microbiol Rev**, v. 27, n. 1, p. 3-20, 2014.

PAI, M.; MENZIES, D. The new IGRA and the old TST: making good use of disagreement. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 175, n. 6, p. 529-31, 2007.

PAI, M.; RILEY, L. W.; COLFORD, J. M., JR. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. **Lancet Infect Dis**, v. 4, n. 12, p. 761-76, 2004.

PERSON, A. K.; STERLING, T. R. Treatment of latent tuberculosis infection in HIV: shorter or longer? **Curr HIV/AIDS Rep**, v. 9, n. 3, p. 259-66, 2012.

PETROFF, A. S. A new rapid method for the isolation and cultivation of tubercle bacille directly from sputum and fees. **J Exp Med**, p. 21-38, 1915.

POORAN, A. *et al.* Different screening strategies (single or dual) for the diagnosis of suspected latent tuberculosis: a cost effectiveness analysis. **BMC Pulm Med**, v. 10, p. 7, 2010.

POORHASAN, A.; HAGHDOOST, M.; MASHRABI, O. Comparison of Tuberculin Skin Test and Interferon Gamma Assay for the Diagnosis Latent Tuberculosis. **Am J Inf Dis**, v. 6, n. 2, p. 50-3, 2010.

RACHID, M.; SCHECHTER, M. **Manual de HIV/AIDS**. 9a. ed. Revisada e Ampliada. Rio de Janeiro: Revinter, 2008.

RAVIGLIONE, M. C. The Global Plan to Stop TB, 2006-2015. actions for life: towards a world free of tuberculosis. **Int J Tuberc Lung Dis**, v. 10, n. 3, p. 240-1, 2006.

ROSS, L.; GOFF, M. Latent tuberculosis infection and BCG vaccination. **J Midwifery Womens Health**, v. 50, n. 4, p. 344-7, 2005.

RUUTEL, K. *et al.* Prevalence of IGRA-positivity and risk factors for tuberculosis among injecting drug users in Estonia and Latvia. **Int J Drug Policy**, v. 25, n. 1, p. 175-8, 2014.

SANTORO-LOPES, G. *et al.* Reduced risk of tuberculosis among Brazilian patients with advanced human immunodeficiency virus infection treated with highly active antiretroviral therapy. **Clin Infect Dis**, v. 34, n. 4, p. 543-6, 2002.

SIMÃO, M.; BARREIRA, D. **Coinfecção HIV/TB: resposta nacional e integração das agendas.** 2008. Disponível em: < <http://goo.gl/GUKT68> >. Acesso em: 05/08/2011.

SLATER, M.; PARSONNET, J.; BANAEI, N. Investigation of false-positive results given by the QuantiFERON-TB Gold In-Tube assay. **J Clin Microbiol**, v. 50, n. 9, p. 3105-7, 2012.

STOUT, J. E.; MENZIES, D. Predicting tuberculosis: does the IGRA tell the tale? **Am J Respir Crit Care Med**, v. 177, n. 10, p. 1055-7, 2008.

STREECK, H.; ALTFELD, M. **Acute HIV-1 Infection.** 2011. Disponível em: < <http://goo.gl/DO5xOX> >. Acesso em: 22/04/2014.

SZWARCWALD, C. L. *et al.* HIV-related risky practices among Brazilian young men, 2007. **Cad Saude Publica**, v. 27 Suppl 1, p. S19-26, 2011.

TEIXEIRA, H. C.; ABRAMO, C.; MUNK, M. E. Immunological diagnosis of tuberculosis: problems and strategies for success. **J Bras Pneumol**, v. 33, n. 3, p. 323-34, 2007.

TIERNAN, J. F. *et al.* Does an interferon-gamma release assay change practice in possible latent tuberculosis? **QJM**, v. 106, n. 2, p. 139-46, 2013.

TUFARIELLO, J. M.; CHAN, J.; FLYNN, J. L. Latent tuberculosis: mechanisms of host and bacillus that contribute to persistent infection. **Lancet Infect Dis**, v. 3, n. 9, p. 578-90, 2003.

UNAIDS. **Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2012.** Disponível em: < <http://goo.gl/72nAAU> > Acesso em: 13/10/2014.

WHO. **Tuberculosis Control: Surveillance, Planning, Financing.** 2007. Disponível em: < <http://goo.gl/crcjNb> > Acesso em: 28/08/2014.

\_\_\_\_\_. **Three I's Meeting. Intensified Case Finding (ICF) for people living with HIV. Repor of a Join World Health Organization HIV/AIDS and TB Department Meeting.**, Geneva, Switzerland. 2008. Disponível em: < <http://goo.gl/nqvwRn> >. Acesso em: 26/07/2011.

\_\_\_\_\_. **Stop TB Partnership - The Global Plan to Stop TB 2011-2015.** 2010. Disponível em: < <http://goo.gl/57gG7b> > Acesso em: 13/10/2014.

\_\_\_\_\_. **Global tuberculosis report. 2013.** Disponível em: < <http://goo.gl/hChkaA> > Acesso em: 13/10/2014.

\_\_\_\_\_. **Tuberculosis. 2014.** Disponível em: < <http://goo.gl/Q7aeZA> >. Acesso em: 28/08/2014.

WOLF, T. *et al.* Tuberculosis skin test, but not interferon- $\gamma$ -releasing assays is affected by BCG vaccination in HIV patients. **J Infect**, v. 66, n. 4, p. 376-80, 2013.



## APÊNDICES

### APÊNDICE 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

#### **Análise do IGRA versus prova tuberculínica para detecção de infecção latente por *Mycobacterium tuberculosis* em pacientes HIV positivos atendidos no Hospital de Clínicas da UFPR**

Investigador principal: Sonia Mara Raboni

#### **Objetivos:**

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa. Sua participação neste trabalho é voluntária. Isto significa que você pode se recusar a participar dele, ou deixar de fazer parte dele a qualquer momento. Se você desejar participar desta pesquisa pediremos que assine duas vias deste documento, uma delas ficará em nossos arquivos e outra com você.

#### **Introdução/Objetivos:**

A tuberculose é um sério problema no mundo. A transmissão da tuberculose se dá por via aérea, quando uma pessoa com tuberculose tosse, espirra ou fala. Quem tem contato com pacientes com tuberculose pode se infectar. A maioria dos que se infectam nunca adoecem, mas se a infecção foi recente, ou se a pessoa infectada é criança ou tem infecção pelo HIV, o risco aumenta muito. Você foi chamado para participar deste estudo, que consiste em detectar a infecção pelo bacilo da tuberculose por dois métodos diferentes: a prova tuberculínica (também conhecida como teste do PPD) e o IGRA, um exame de sangue. O resultado destes testes, que constam do protocolo da pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, será transmitido a você. Também daremos informações sobre se você deve ou não se tratar, e se você quiser se tratar, nos responsabilizaremos pelo tratamento e o acompanhamento do tratamento.

#### **Métodos:**

Você será submetido à prova tuberculínica, com aplicação por injeção na pele de um pequeno volume de um líquido estéril chamado PPD, exame esse de rotina no HC. Um profissional treinado lerá o resultado desta prova no seu braço 2 ou 3 dias depois da injeção. Cerca 3 ml de sangue será retirado de sua veia com seringas plásticas e agulhas descartáveis. Também poderá ser solicitado a você uma amostra de escarro para análises. Além disso, nós pediremos que você responda a algumas perguntas. Dependendo dos resultados dos exames, poderemos solicitar que os repita.

#### **Riscos e desconfortos:**

A prova tuberculínica consiste em uma injeção na pele com agulha muito fina e a reação pode causar leve desconforto. Ocasionalmente pode haver alguma reação fora do local da injeção, como febre ou ínguas, mas isso é muito raro. A retirada de sangue também pode causar algum desconforto no local da agulha. No caso de dificuldades na obtenção da amostra de escarro um profissional fisioterapeuta o acompanhará nesta coleta.

#### **Benefícios potenciais:**

Sua participação nesta pesquisa pode nos ajudar a conhecer o valor de novos testes (chamados IGRA) no diagnóstico e acompanhamento dos contatos de pacientes com tuberculose. A partir destes resultados, também poderemos propor a implementação de medidas de proteção para os profissionais de saúde das unidades que participaram do projeto e para pessoas que vivem privadas de liberdade.

#### **Custos e/ou pagamento por participar do estudo:**

Não há custos para você participar do estudo. Você também não receberá nada por participar.

#### **Confidencialidade (privacidade dos dados):**

Seus dados poderão ser revistos por mais de 15 anos pela equipe envolvida no estudo, apenas com o objetivo de recuperar informações relativas à pesquisa. Os resultados do estudo serão publicados, mas seu nome não será revelado em nenhuma publicação. As amostras coletadas serão destruídas após o final do estudo. Todas as informações são confidenciais.

#### **Participação voluntária:**

Sua participação neste estudo é voluntária. Se você não quiser participar, não haverá nenhum prejuízo para o seu tratamento ou acompanhamento médico. Você também poderá se recusar a responder algumas perguntas, e poderá desistir de participar a qualquer momento do estudo, sem nenhum prejuízo.

Rubricas:

Sujeito da Pesquisa e /ou responsável legal \_\_\_\_\_

**Pessoas que podem ser contatadas:**

Se você tiver qualquer dúvida a respeito desta pesquisa pode contatar a Dra. Sonia Mara Raboni pelo telefone 3360-1800, ramal 6171 ou a Farmacêutica Bioquímica Gislene Maria Botão Kussen 3360-7975, de 2ª a 6ª, das 13:00 às 18:00 horas ou no celular 9118-2626.

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

1. Eu compreendi que este é um trabalho de pesquisa.
2. Eu li todas as páginas deste termo de consentimento. A equipe envolvida na pesquisa me deu todas as informações a respeito dos procedimentos do trabalho. Tive a oportunidade de fazer perguntas, e minhas perguntas foram respondidas de forma satisfatória. Foi-me dado tempo suficiente para considerar com atenção as informações recebidas e decidir participar ou não do estudo.
3. Fui devidamente informado que minha participação neste estudo é inteiramente voluntária e que eu posso me recusar a participar ou desistir do estudo a qualquer momento, sem qualquer tipo de prejuízo
4. Eu autorizo que meus dados sejam revelados à equipe envolvida na pesquisa e ao comitê de ética responsável pela aprovação deste projeto, apenas para finalidades relativas ao estudo. Caso haja reação positiva ao teste da prova tuberculínica autorizo a realização de fotos para publicação, com a garantia de que não serei identificado. Esta autorização é válida por um período de 15 anos.
5. Eu compreendi que vou receber um a cópia deste termo para guardar comigo depois de assinada.
6. Minha assinatura abaixo indica que, por minha escolha, concordo em participar deste estudo.

**Participante:**

\_\_\_\_\_ Ctba, \_\_\_\_\_  
 (Assinatura) (Nome)

**Pesquisador:**

\_\_\_\_\_ Ctba, \_\_\_\_\_  
 (Assinatura) (Nome)

**Pesquisador responsável pela solicitação do TCLE:** Farmacêutica Bioquímica Gislene Maria Botão Kussen (CRF 5981-PR)

## APÊNDICE 2 - QUESTIONÁRIO DE PESQUISA:

**Análise do ensaio imunológico IGRA versus prova tuberculínica para detecção de infecção latente por *Mycobacterium tuberculosis* em pacientes HIV positivos atendidos no Hospital de Clínicas da UFPR**

Data da entrevista: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_

RG HC: \_\_\_\_\_ DN: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Sexo ☐ F ☐ M

Endereço: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_ Telefone Casa: \_\_\_\_\_ Cel: \_\_\_\_\_

Trab: \_\_\_\_\_ Contato: \_\_\_\_\_ (nome: \_\_\_\_\_)

Estado civil: \_\_solteiro, \_\_casado, \_\_vive com companheiro, \_\_divorciado, \_\_viúvo

Escolaridade: \_\_analfabeto ou primário incompleto (até 4ª série)

\_\_primário completo ou ginásio incompleto (até 8ª série)

\_\_ginásio completo e segundo grau (ensino médio) incompleto

\_\_segundo grau (ensino médio) completo

\_\_terceiro grau

\_\_Pós-Graduação

Profissão: \_\_\_\_\_

Ocupação: \_\_\_\_\_

Escolaridade do chefe de família: : \_\_analfabeto ou primário incompleto (até 4ª série)

\_\_primário completo ou ginásio incompleto (até 8ª série)

\_\_ginásio completo e segundo grau (ensino médio) incompleto

\_\_segundo grau (ensino médio) completo

\_\_terceiro grau

\_\_Pós-Graduação

Renda media mensal da família: \_\_\_\_\_ (Para quantas pessoas: \_\_\_\_\_)

Número de pessoas vivendo na mesma casa: \_\_\_\_\_

Contato com caso de TB: \_\_Não, \_\_Sim (quem \_\_\_\_\_)

Caso afirmativo

☐Domiciliar

☐Extra-domiciliar

Quantas horas/dia de contato? \_\_\_\_\_

Há quanto tempo tem contato? \_\_\_\_\_

**Caso índice:**

Tosse há \_\_\_\_\_ semanas ou \_\_\_\_\_ meses

Bacilosocpia do escarro:

☐Negativa ☐Positiva Número de cruces \_\_\_\_\_

Cultura do escarro:

☐Negativa ☐Positiva

Rx com caverna? ☐Sim ☐Não

Já teve TB?

☐Sim (quando \_\_\_\_\_, tratamento completo ☐Sim ☐Não)

☐Não

Já fez TILTB?

☐Sim (quando \_\_\_\_\_, tratamento completo ☐Sim ☐Não)

☐Não

Vacinado com BCG? ☐Sim ☐Não

Tem cicatriz vacinal? ☐Sim ☐Não

Vacina há menos de 5 anos? ☐Sim (quando: há \_\_\_\_\_ anos) ☐Não

Diagnóstico de HIV desde: data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Anti-HIV triagem: ( ) Positivo ( ) Negativo ( ) Sem informação ( ) Não realizado

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Anti-HIV confirmatório: ( ) Positivo ( ) Negativo ( ) Sem informação ( ) Não realizado

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

CD4 nadir (+ baixo): \_\_\_\_\_ células/ml Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Último CD4: \_\_\_\_\_ células/ml Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Presença de doença oportunista ☐ Não ☐ Sim Qual: \_\_\_\_\_

Última carga viral: \_\_\_\_\_ cópias/ml Log \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Tratamento antirretroviral:

( ) Não ( ) Sim Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Terapia antirretroviral atual:

( ) AZT (Zidovudina) ( ) 3TC (lamivudina) ( ) AZT+3TC (Biovir)

( ) D4T (Estavudina) ( ) DDI (Didanosina) ( ) ABV (Abacavir) ( ) TFV (Tenofovir)

( ) FTC (entricitabina) ( ) RTV (Ritonavir) ( ) LPV/RTV (Lopinavir/Ritonavir)

( ) ATV (Atazanavir) ( ) APV (Amprenavir) ( ) FAPV (Fosamprenavir)

( ) DRV (Darunavir) ( ) TPV (Tipranavir) EFV (Efavirenz) ( ) NVP (Nevirapina)

( ) DLV (Delavirdina) ( ) T20 (Inibidor de Fusão/Enfuvirtida)

( ) Ral (Raltegravir/Inibidor da Integrase) ( ) CCR5 (Inibidor receptor/Maraviroc)

Você já realizou Prova tuberculínica antes (teste do PPD)? ☐ Não ☐ Sim

Se sim, quando: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ qual o resultado?

☐ não lembro ☐ não reator ☐ reator, \_\_\_\_ mm

Apresenta algum sintoma?

☐ Não ☐ Sim Sintomas: \_\_\_\_\_ há \_\_\_\_\_

Resultado dos exames:

Data do IGRA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado: ☐ Negativo ☐ Positivo

Data da PT: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado em mm: \_\_\_\_\_

Se realizado:

Hemocultura: ☐ Negativa ☐ Positiva

Rx de tórax: ☐ Normal ☐ Alterado: \_\_\_\_\_

Bacilosocpia: ☐ Negativa ☐ Positiva Número de cruzes: \_\_\_\_\_

Cultura: Material \_\_\_\_\_ ☐ Negativa ☐ Positiva

Teste de identificação: \_\_\_\_\_

Teste de sensibilidade: \_\_\_\_\_

Drogas sensíveis: \_\_\_\_\_

Drogas resistentes: \_\_\_\_\_

Tratamento realizado:

☐ Tratamento não indicado ☐ TILTB ☐ Tratamento doença TB

Data do início do tratamento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data do término do tratamento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Acompanhamento:

Data retorno: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Aplicação PT: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Leitura PT: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_ mm \_\_\_\_

Coleta IGRA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_\_

Se realizado:

Hemocultura: ☐ Negativa ☐ Positiva

Rx de tórax: ☐ Normal ☐ Alterado: \_\_\_\_\_

Bacilosocpia: ☐Negativa      ☐Positiva      Número de cruces: \_\_\_\_\_  
Cultura: Material \_\_\_\_\_ ☐Negativa      ☐Positiva  
Teste de identificação: \_\_\_\_\_  
Teste de sensibilidade: \_\_\_\_\_  
Drogas sensíveis: \_\_\_\_\_  
Drogas resistentes: \_\_\_\_\_

Tratamento realizado:

☐Tratamento não indicado    ☐TILTB    ☐Tratamento doença TB  
Data do início do tratamento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
Data do término do tratamento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
Data do final do acompanhamento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
Desfecho do caso (em relação a tb)  
☐Paciente assintomático, não desenvolveu doença  
☐Paciente desenvolveu doença durante acompanhamento  
☐Paciente doente na investigação inicial: ☐ curado ☐ óbito ☐ abandono  
☐Ignorado por ☐ óbito ☐ abandono

## ANEXO

### Parecer consubstanciado do CEP

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná - HCUFPR

#### PROJETO DE PESQUISA

**Título:** ANÁLISE DO ENSAIO IMUNOLÓGICO IGRA VERSUS PROVA TUBERCULÍNICA PARA DETECÇÃO DE INFECÇÃO LATENTE POR *Mycobacterium tuberculosis* EM PACIENTES HIV POSITIVOS ATENDIDOS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UFPR

**Área Temática:**

**Pesquisador:** Sonia Mara Raboni

**Versão:** 3

**Instituição:** Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

**CAAE:** 02239612.4.0000.0096

#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

**Número do Parecer:** 43563

**Data da** 25/06/2012

**Apresentação do Projeto:**

adequado

**Objetivo da Pesquisa:**

adequado

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

adequado

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

cumpriu as recomendações

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

adequado

**Recomendações:**

É obrigatório trazer ao CEP/HC uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido que foi aprovado, para assinatura e rubrica. Após, xerocar este TCLE em duas vias, uma ficará com o pesquisador e uma para o participante da pesquisa.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

cumpriu as recomendacoes anteriores.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HC-UFPR, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto conforme proposto para início da Pesquisa. Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos. É obrigatório trazer ao CEP/HC uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido que foi aprovado, para assinatura e rubrica. Após, xerocar este TCLE em duas vias, uma ficará com o pesquisador e uma para o participante da pesquisa.